



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**DETERMINACIÓN DE PLOMO EN EXTRACTOS
ETANÓLICOS DE PROPÓLEOS MEXICANOS POR
ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN
ATÓMICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARÍA NANCY BENÍTEZ SANDOVAL

ASESORA:

M. EN C. BETSABÉ RODRÍGUEZ PÉREZ

COASESOR:

DR. TONATIUH ALEJANDRO CRUZ SÁNCHEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

UNIDAD DE ESTUDIOS
DE CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Determinación de plomo en extractos etanólicos de propóleos mexicanos por espectrofotometría de absorción atómica.

Que presenta la pasante: María Nancy Benitez Sandoval
Con número de cuenta: 099508238 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de Julio de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Guillermo Peniñes Carrillo	
VOCAL	Dra. Ma. Esther Revuelta Miranda	
SECRETARIO	M. en C. Betsabé Rodríguez Pérez	
1er. SUPLENTE	M. en E. Victoria Oralia Hernández Palacios	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Brigida del Carmen Camacho Enriquez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IMCF/Imcf

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ayudarme a terminar este proyecto, por ser mi fortaleza en momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias, permitiéndome aprender de mis errores para mejorar como ser humano y crecer de diversas maneras.

A mis asesores, M. en C. Betsabé Rodríguez y Dr. Tonatiuh Cruz por invitarme a participar en este proyecto, por su apoyo, su confianza y paciencia, pero sobre todo por alentarme a seguir adelante, muchas gracias.

A los miembros del jurado, Dr. Guillermo Penieres, Dra. María Esther Revuelta, M. en E. Victoria Oralía Hernández, QFB. Brígida del Carmen Camacho, por todas las sugerencias y correcciones en la realización de este trabajo.

A mis padres Nerey y Armando, que con mucho amor y cariño les dedico todo mi esfuerzo y trabajo puesto para la realización de esta tesis, por su apoyo y comprensión y por creer en mí, los amo.

A mis hermanos Rosalba, Alberto, Miriam y Armando ya que sin su apoyo no hubiera podido salir adelante.

A mi cuñado Paco, por ser un ejemplo de lucha y animarme a seguir y concluir este proyecto.

A todos mis amigos pasados y presentes; pasados por ayudarme a creer y madurar como persona y presentes por estar siempre conmigo apoyándome en todas las circunstancias posibles, también son parte de esta alegría.

A Laura, Jessica, Verónica, Nayely y Alejandra, a ellas por que fueron mi apoyo durante este agradable y difícil periodo académico, por ser mis amigas y por seguir soportándome y siendo parte de mi vida.

A Ale y Lidia por brindarme en esta última etapa su amistad y su apoyo.

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM, en PROYECTO IT200915 denominado Desarrollo de productos con propóleo para su uso pasteurelisis del conejo, el distemper canino y la otitis canina.

El trabajo se realizó en los siguientes laboratorios:

- Laboratorio No. 6, Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Bajo la responsabilidad de la M. en C. Betsabé Rodríguez Pérez y del Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez.



- Laboratorio de Química Experimental de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, (UNAM). Bajo la responsabilidad de la M. E. Victoria O. Hernández Palacios.
- Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, (UNAM). Bajo la responsabilidad del Dr. Julio Botello.

Índice general

ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS.....	III
SÍMBOLOS	IV
GLOSARIO	IV
RESUMEN.....	VIII
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	3
3 JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS	4
3.1 JUSTIFICACIÓN.....	4
3.2 HIPÓTESIS	4
4 ANTECEDENTES	5
4.1 APICULTURA	5
4.2 PROPÓLEO.....	6
4.2.1 <i>Definición del propóleo</i>	6
4.2.2 <i>Composición del propóleo</i>	8
4.2.3 <i>Caracterización química del propóleo en México</i>	10
4.2.3.1 Regiones apícolas en México.....	10
4.2.4 <i>Propiedades farmacológicas</i>	13
4.2.5 <i>Propiedades antimicrobianas</i>	13
4.2.5.1 Actividad antibacteriana.....	13
4.2.5.2 Actividad antimicótica	14
4.2.5.3 Actividad antiviral.....	14
4.2.6 <i>Actividad cicatrizante y antiinflamatoria</i>	15
4.2.7 <i>Actividad inmunomoduladora</i>	16
4.2.8 <i>Actividad antioxidante</i>	16
4.3 MÉTODOS DE RECOLECCIÓN.....	17
4.3.1 <i>Método artesanal o método de raspado</i>	17
4.3.2 <i>Método técnico o método de mallas</i>	18
4.3.3 <i>Limpieza, almacenamiento y conservación</i>	19

4.4	CALIDAD DE PROPÓLEOS	21
4.5	CONTAMINACIÓN DE PROPÓLEOS	22
4.6	PLOMO	24
4.6.1	<i>Toxicocinética</i>	25
4.6.1.1	Absorción.....	25
4.6.1.2	Distribución y almacenamiento.....	26
4.6.1.3	Eliminación, metabolismo o biotransformación.....	27
4.6.2	<i>Toxicodinamia</i>	28
4.6.3	<i>Manifestaciones clínicas</i>	30
4.6.4	<i>Concentración de plomo en sangre</i>	32
4.7	ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	33
4.7.1	<i>Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica</i>	36
4.7.2	<i>Absorción atómica de flama</i>	38
4.7.3	<i>Aplicaciones</i>	39
5	METODOLOGÍA	40
5.1	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	40
5.2	MUESTRAS DE PROPÓLEOS.....	40
5.2.1	<i>Acondicionamiento de las muestras</i>	42
5.2.2	<i>Preparación de los extractos etanólicos (EEP)</i>	43
5.3	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO.....	43
5.3.1	<i>Preparación de la curva de calibración</i>	43
5.3.1.1	Solución patrón de referencia.....	43
5.3.1.2	Preparación de estándares a cada intervalo de concentración.	44
5.3.2	<i>Preparación de las muestras</i>	45
5.3.3	<i>Determinación de plomo en las muestras de extractos etanólicos de propóleo</i>	45
6	RESULTADOS	47
6.1	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS GENERALES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS (EEP) OBTENIDOS.	47
6.2	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE PLOMO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA	48
7	DISCUSION	53
8	CONCLUSIONES	55
9	PROSPECTIVAS	56
10	BIBLIOGRAFÍA	57

Índice de figuras

FIGURA 1. ABEJA <i>Apis mellifera</i>	1
FIGURA 2. APICULTURA.....	5
FIGURA 3. ASPECTO FÍSICO DEL PROPÓLEO EN GREÑA	7
FIGURA 4. REGIONES APÍCOLAS DE MÉXICO	12
FIGURA 5. MÉTODO DE RASPADO PARA RECOLECTAR PROPÓLEO	17
FIGURA 6. MÉTODO DE MALLAS PARA RECOLECTAR PROPÓLEO	18
FIGURA 7. INTERACCIÓN ENTRE LA ABEJA Y DISTINTAS FUENTES DE CONTAMINACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE.	23
FIGURA 8. CARACTERÍSTICAS DEL PLOMO EN SU ESTADO SÓLIDO.	24
FIGURA 9. TOXICOCINÉTICA DE PLOMO EN EL ORGANISMO HUMANO.....	26
FIGURA 10. DISTRIBUCIÓN DEL PLOMO, MODELO DE LOS TRES COMPARTIMENTOS EN EL ORGANISMO HUMANO.	27
FIGURA 11. EFECTOS DEL PLOMO EN LA SÍNTESIS DEL HEM.	29
FIGURA 12. PLUMBEMIA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	32
FIGURA 13. PROCESO DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	34
FIGURA 14. PROCESO DEL ANÁLISIS CUANTITATIVO POR ABSORCIÓN ATÓMICA.	35
FIGURA 15. COMPONENTES PRINCIPALES DEL ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA	38
FIGURA 16. REPRESENTACIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS EN LA FASE EXPERIMENTAL DE ESTA INVESTIGACIÓN.	40
FIGURA 17. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE RECOLECCIÓN DE PROPÓLEOS	41
FIGURA 18. COLOR Y CONSISTENCIA A 20°C DE LOS OCHO EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PROPÓLEO	47
FIGURA 19. CURVA DE CALIBRACIÓN DE PLOMO.....	51

Índice de tablas

TABLA 1. PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS DEL PROPÓLEO.	9
TABLA 2. REGIONES APÍCOLAS MEXICANAS	10
TABLA 3. PARÁMETROS DE EVALUACIÓN DE LOS PROPÓLEOS.....	22
TABLA 4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE INTOXICACIÓN POR PLOMO.....	31
TABLA 5. TEMPERATURAS DE FLAMA.....	39
TABLA 6. FECHA DE RECOLECCIÓN Y UBICACIÓN DE LOS APIARIOS.....	41
TABLA 7. ESTÁNDARES A CADA INTERVALO DE CONCENTRACIÓN.	44
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS GENERALES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PROPÓLEOS.....	48
TABLA 9. RESULTADOS DE CURVA DE CALIBRACIÓN	49

TABLA 10. CURVA DE CALIBRACIÓN PROMEDIO DE PLOMO 50

TABLA 11. CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PROPÓLEO 52

Símbolos

%	Porcentaje
°C	Grado Celsius
g	Gramos
mg	Miligramos
µg	Microgramos
mL	Mililitros
dL	Decilitro
H	Hora
I	Intensidad reducida
I _o	Intensidad inicial

GLOSARIO

Aminoaciduria	Cantidad anormal de aminoácidos en la orina. Los aminoácidos son los pilares fundamentales de las proteínas en el cuerpo.
Astenia	Síntoma caracterizado por una sensación generalizada de cansancio, fatiga, debilidad física y psíquica; con principal incidencia entre las personas de 20 a 50 años, y mayor preponderancia en las mujeres que en los hombres. La astenia prolongada puede derivar al diagnóstico del síndrome de fatiga crónica.
Atrofia	Disminución de peso y volumen de un órgano o un tejido por falta de nutrición, por alteración de su inervación o su irrigación o por falta de funcionamiento.

Burton, ribete de	Ribete violáceo o negruzco situado sobre las encías, a nivel de cuello de los dientes. Indica una intoxicación crónica por el plomo, y se observa principalmente en las intoxicaciones profesionales (pintores, plomeros, etc.)
Compuestos fenólicos	Son compuestos aromáticos, que junto a los flavonoides, le confieren a los propóleos sus usos y aplicaciones biológicas; los principales compuestos fenólicos de los propóleos son: ácido cafeico, ácido ferúlico, entre otros.
Curva de calibración	Al conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se cuantifica el compuesto por analizar.
Daño axonal	Lesión encefálica más frecuente y más devastadora, ya que el daño ocurre sobre un área amplia más que en un punto focal del cerebro.
Edema	Hinchazón causada por la acumulación de líquido en los tejidos del cuerpo. Suele ocurrir en los pies, los tobillos y las piernas, pero puede afectar todo el cuerpo.
Endoneuro	Tejido conjuntivo laxo que rodea las fibras nerviosas mielínicas y amielínicas de los nervios periféricos.
Fanconi Síndrome de	Trastorno de los túbulos renales en el cual ciertas sustancias normalmente absorbidas en el torrente sanguíneo por los riñones son liberadas en su lugar en la orina.

Flavonoides	Compuestos orgánicos derivados hidroxilados de la 2-fenilbenzopiran-4-ona, y sistemas reducidos en C2-C3 y/o C4 provenientes de exudados vegetales con múltiples aplicaciones.
Fibrosis	Formación de tejido fibroso. Transformación de un tejido en el que aumenta la cantidad de tejido conjuntivo fibroso con incremento de la proporción de fibras colágenas y disminución de las células y vasos.
Glucosuria o glicosuria	Presencia de glucosa en la orina.
Hem o hemo, grupo	El hem o hemo es un término químico que define una estructura que contiene un átomo de hierro, forma parte de la hemoglobina, que permite el transporte del oxígeno entre los pulmones y los órganos ya que el dioxígeno se fija sobre este átomo durante el proceso de oxigenación de la sangre. Es por esta razón que está considerado como un cofactor importante de la hemoglobina. La estructura del hem lleva el nombre de porfirina. Está constituida por cuatro núcleos que contienen un átomo de nitrógeno y cuatro átomos de carbono.
Hipertiroidismo	Trastorno funcional de la tiroides. La tiroides genera demasiadas hormonas tiroideas, lo que provoca un exceso de producción que a su vez aceleran los procesos metabólicos.
Hipofosfatemia	Es un nivel bajo de fósforo en la sangre.
Impurezas	Elementos ajenos a los propóleos, que han sido incorporados durante el proceso de recolección y manipulación de éste.

Neuropatía periférica	Daño a un solo nervio o a un grupo de nervios periféricos que llevan información hasta y desde el cerebro. La neuropatía periférica significa que estos nervios no funcionan apropiadamente También puede afectar a los nervios en todo el cuerpo
Plumbemia	(Del latín <i>plumbum</i> , plomo, y del griego <i>haima</i> , sangre.) Presencia de plomo en la sangre. Envenenamiento que produce el plomo (Pb) cuando entra en el cuerpo humano.
Proteinuria	Presencia de proteínas en la orina
Propóleo(s)	Nombre genérico que se da a las sustancias resinosas recolectadas y procesadas por las abejas de la vegetación circundante al apiario. De aspecto resinoso, su color puede variar dependiendo de su origen desde el rojo, amarillo-rojizo, amarillo-oscuro, verde castaño, pardo o negro, con sabor amargo y ligeramente picante.
Sepsis	Enfermedad grave que ocurre cuando el cuerpo tiene una abrumadora respuesta inmunitaria a una infección bacteriana. Las sustancias químicas liberadas a la sangre para combatir la infección desencadenan una inflamación generalizada, lo que conduce a la formación de coágulos de sangre y la filtración de vasos sanguíneos. Esto causa un pobre flujo sanguíneo, lo que priva a los órganos de nutrientes y oxígeno. En los casos más serios, uno o más órganos pueden fallar, la presión arterial baja y el corazón se debilita, lo que lleva a un shock séptico.
Tubulopatía	Toda afección aguda o crónica que afecta a los túbulos renales.

RESUMEN

El propóleo es un producto, elaborado por las abejas a partir de ciertas especies vegetales y presenta en su composición numerosos minerales (zinc, cobre, calcio, hierro, etc.). Por otro lado, puede contener metales potencialmente tóxicos como plomo, cadmio y arsénico provenientes de la contaminación ambiental.

El plomo puede llegar a ser uno de los principales contaminantes en los propóleos, provocando diversos efectos toxicológicos en la salud humana que causa problemas neurológicos, fisiológicos y de comportamiento en los niños como saturnismo, umbral de audición elevada y disminución en el coeficiente intelectual a bajos niveles de éste metal en la sangre.

El objetivo de este trabajo fue determinar las concentraciones de plomo en ocho extractos blandos etanólicos de diferentes regiones de la República Mexicana, mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Las muestras analizadas no presentaron concentraciones >0.2 ppm, que es el límite establecido por la normatividad internacional de calidad de países como Brasil, Argentina y Japón para extractos de propóleos.

1 INTRODUCCIÓN

El propóleo es un producto de composición compleja que las abejas *Apis mellifera* (Figura 1) recolectan a partir de resinas vegetales, por lo que su composición varía según la fuente de procedencia. Se han identificado más de 300 componentes en los propóleos, tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos, alcoholes y cetonas fenólicas), terpenoides, esteroides, aminoácidos y compuestos inorgánicos (Palomino García, Martínez Galán, García Pajón, Gil González, & Durango Restrepo, 2010), que le confieren propiedades biológicas como antioxidantes, antimicrobianas, cicatrizantes, antiinflamatorias, estimulantes del sistema inmune, entre otras.



Figura 1. Abeja *Apis mellifera*.

(Ricón, 2016)

En México se utiliza este producto como auxiliar en el tratamiento de enfermedades respiratorias, en productos cosméticos, en cremas y como suplemento alimenticio, sin embargo, no se cuenta con una normatividad que regule la presencia de contaminantes en el propóleo (Rodríguez Pérez, 2015). El control de calidad de los productos de la colmena comienza desde las buenas prácticas agrícolas (BPA) y de

fabricación (BPF) y cualquier falla en el proceso se reflejará en el deterioro de su calidad e inocuidad (Saavedra *et al.*, 2007).

Entre los principales contaminantes reportados destaca el plomo, que puede entrar en contacto con las abejas a través del aire, agua, plantas y suelo, y después ser transportado a sus colmenas (Bogdanov, 2005), pero las mayores concentraciones encontradas son resultado de las actividades humanas, por ejemplo, la combustión de gasolina con antidetonantes a base de plomo, los arseniatos de plomo que se emplean en grandes cantidades en insecticidas para la protección de los cultivos, entre otros.

Su acumulación en forma de sales insolubles no es tóxica para la planta, pero sí para el organismo que la consume, provocando en el organismo de los seres humanos la sustitución del calcio de los huesos por plomo o acumularse en el encéfalo causando una enfermedad conocida como saturnismo, con las consecuentes implicaciones toxicológicas (Saavedra *et al.*, 2007).

Es por el incremento del uso de los propóleos en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, veterinaria y química, que se requieren establecer las especificaciones analíticas para la determinación del contenido de plomo en muestras de propóleos como parte del control de calidad e inocuidad del producto.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general.

Determinar las concentraciones de plomo en extractos etanólicos de propóleos mexicanos por espectrofotometría de absorción atómica, como parte de los métodos de prueba que deben cumplir los propóleos para su comercialización e inocuidad.

2.2 Objetivos particulares.

- Obtener muestras de propóleos del Estado de México, Puebla, Michoacán, Guanajuato y Veracruz y determinar sus características organolépticas.
- Obtener los extractos etanólicos de los propóleos (EEP).
- Determinar el contenido de plomo utilizando el método de espectrofotometría de absorción atómica.
- Proponer la determinación de contenido de plomo en los propóleos como control de contaminantes para garantizar que el producto pueda ser utilizado por la población.

3 JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

3.1 Justificación

Debido a la amplia utilización del propóleo en México como medicina alternativa para enfermedades respiratorias, digestivas y/o ginecológicas, es necesario verificar que en su composición no contenga plomo, con el propósito de garantizar la seguridad de este producto y posteriormente puedan ser utilizados en la industria farmacéutica, alimentaría y cosmética.

3.2 Hipótesis

Si los propóleos se componen de resinas que recolectan las abejas de la flora circundante a la colmena, y dichas colmenas se encuentran en zonas urbanas de diferentes estados de República Mexicana entonces pueden presentar plomo en su composición.

4 ANTECEDENTES

4.1 Apicultura

La palabra apicultura proviene del latín *Apis* (abeja) y *Cultura* (cultivo), es decir, la ciencia que se dedica al cultivo o cría de las abejas. La apicultura se define como el “Arte de criar abejas para aprovechar sus productos” (López del Villar & Ubillús Celi, 2004). Una definición más completa, define a la apicultura como “la ciencia que se dedica a la crianza de las abejas melíferas y a prestarles los cuidados necesarios con el objetivo de obtener y consumir los productos que son capaces de elaborar y recolectar como es la miel, el propóleo, la jalea real, cera, y veneno de abeja” (Guzzetti & Santi, 2006). La Figura 2 representa una red de panal con imágenes referentes a la apicultura.



Figura 2. Apicultura.

(Muñoz, 2014)

En México, la apicultura se inició aproximadamente en el año 1920. La apicultura moderna se desarrolla a partir de las primeras exportaciones de miel alrededor de 1950.

En los últimos años los apicultores han prestado más atención a otros productos de la colmena, como son el polen, la jalea real, cera, veneno y propóleos. De éste último, se ha incrementado la demanda mundial por sus características antibacterianas, antioxidante, antiinflamatorias y cicatrizantes entre otras.

Los principales países productores de propóleos en el mundo son: China, Brasil, Argentina, Cuba, Chile, Uruguay y Canadá, así como, los países importadores que captan dicha producción son: Dinamarca, Francia, Alemania, Hungría, Ucrania y Estados Unidos de Norteamérica. Cabe señalar que los países consumidores de propóleo van en aumento (Martínez, Delgado, Rojas, & Casillas, 2011).

4.2 Propóleo

4.2.1 Definición del propóleo

Etimológicamente el término PROPÓLEO proviene del griego *PRO*: “Defensa de” y *POLIS*: “Ciudad”, lo que significa “defensa de la ciudad” (Bedascarrasbure, Maldonado, Fierro Morales, & Alvarez, 2006), (Rodríguez Pérez, 2015). El propóleo es un producto de la colmena formado por una mezcla de resinas y exudados vegetales recolectados por las abejas *Apis mellifera*, con el fin de cumplir diversas funciones dentro de la colmena. Una de ellas, es de tipo estructural, es decir, cubrir grietas y orificios, reparar las paredes, recubrir la entrada de la piquera, fijar los cuadros, principalmente. También es usado como una sustancia embalsamante para cubrir los pequeños animales invasores, que las abejas han eliminado y no pueden transportarlos fuera de la misma. Esta sustancia recubre la colmena protegiéndola de bacterias y hongos (Dario Pierini, 2014).

Las abejas obreras, mediante un proceso bioselector, detectan a través de sus antenas la resina en la fuente vegetal. Seguidamente, valiéndose de sus mandíbulas, de la secreción de las glándulas salivares-mandibulares y el primer par de patas, la ablandan, trituran y transportan a las cestillas o corbículas. Las abejas

realizan las operaciones de recolección de resinas en general en días calurosos, con temperaturas superiores a 20°C, temperatura a la cual la resina se encuentra maleable (Dario Pierini, 2014). La capacidad de producción de propóleos varía en función de las necesidades de la colmena y de factores externos. Otra teoría sobre el origen del propóleo manifiesta que se trata de un producto resultante de la digestión del polen en un pequeño órgano ubicado entre el saco polínico y el intestino (Cortés Rubira, 2008).

Dependiendo de su origen botánico y de la temperatura a la que se encuentre, puede ser amarillo claro, ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde; algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos (Alvarez, 2012). Ver figura 3. Gracias a su contenido en aceites esenciales, el propóleo suele tener un olor agradable y dulce de forma que, cuando se quema, exhala una fragancia de resina aromática, y se caracteriza por su sabor frecuentemente amargo. Su temperatura de fusión oscila entre los 60-70°C (Vargas Sánchez, Torrescano Urrutia, & Sánchez Escalante, 2013), (Rodríguez Pérez, 2015), es insoluble en agua y soluble en éter y alcohol caliente, entre otros.



Figura 3. Aspecto físico del propóleo en greña.

Fotografía tomada en el Laboratorio L-6 Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4 por Benítez Sandoval (2015).

4.2.2 Composición del propóleo

La composición química del propóleo es muy compleja ya que depende de su origen botánico, de las condiciones geográficas, de la biodiversidad de plantas y árboles que producen las resinas; así como la época y clima existentes del lugar de recolección. Se considera un producto de origen mixto, vegetal y animal (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Algunos propóleos que pueden contener más de 180 compuestos, pero los flavonoides (flavonas, flavonoles y flavanonas), ácidos fenólicos y sus ésteres, isoflavonoides, terpenos, chalconas y aminoácidos han sido considerados como sus componentes biológicamente activos (Nagai, Inoue, Inoue, & Suzuki, 2003), (Hernández Hernández, 2015). La presencia de ocho flavonoides como rutina, miricetina, quercetina, kaempferol, apigenina, pinocembrina, crisina y galangina, puede ser usada como marcador para diferenciar al propóleo de otros productos de la colmena (Vargas *et al.*, 2013).

El mayor contenido corresponde a resinas y bálsamos que contiene flavonoides y ácidos fenólicos o sus ésteres (50%), contenido muy variable de ceras (7.5-35%) que afectarán a los contenidos restantes; aceites volátiles (10%); polen (5%) e impurezas (4.4-19.5). Además contienen pequeñas cantidades de terpenos, taninos, restos de las secreciones de las glándulas salivares de las abejas y posibles contaminantes (Hernández Pérez, 2013).

Se puede destacar también que el propóleo es una fuente de macro y micro elementos esenciales para el buen funcionamiento del cuerpo humano, y que participan y regulan diversas reacciones biológicas. Los minerales que se encuentran generalmente en mayor proporción son: Ca^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , K^+ , Fe^{2+} , Na^+ , Zn^{2+} y Cu^{2+} (Nagai *et al.*, 2003), (Kumazawa *et al.*, 2007). La Tabla 1 muestra los principales componentes químicos del propóleo.

Tabla 1. Principales componentes químicos del propóleo.

Componentes	Ejemplos
Ácidos orgánicos	Ácido benzoico (C ₇ H ₆ O ₂) y el gálico (C ₇ H ₆ O ₅).
Ácidos-fenólicos	Ácidos caféico (C ₉ H ₈ O ₄), cinámico (C ₁₁ H ₈ O ₂), ferúlico, insofenílico y p-cumárico.
Aldehídos aromáticos	Vainillina (C ₈ H ₈ O ₃), isovainillina (C ₈ H ₈ O ₃).
Cumarinas	Esculetina (C ₉ H ₆ O ₄), escopoletina.
Flavonoides	<p>Flavonoles: kaempferol (C₁₆H₁₂O₆), quercetina (C₁₅H₁₀O₇), ramnocitrina.</p> <p>Flavonas: acacetina (C₁₆H₁₂O₅), crisina amarilla, pectolinaringenina (C₁₇H₁₄O₆), tectocrisina (C₁₆H₁₂O₄).</p> <p>Flavanonas: naringenina, naringina, hesperetina, hesperidina, taxofilina, pinocembrina (C₁₅H₁₂O₄).</p> <p>Flavanoles: (+)-catequina, epicatequina, galocatequina.</p>
Terpenos	Cedrol, lupeol, α-pineno; β-cariofileno.
Minerales	Aluminio, plata, bario, boro, cromo, cobalto, cobre, estaño, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, níquel, plomo, silicio, estroncio, titanio, vanadio, zinc.
Vitaminas	Provitamina A y Vitamina B ₃

(Hernández Pérez, 2013)

4.2.3 Caracterización química del propóleo en México

4.2.3.1 Regiones apícolas en México

La gran diversidad de tipos de vegetación y ecosistemas que encontramos en México, permite al apicultor contar con una gran variedad tanto en floración nectarpolinífera, como en temporadas de producción. Como producto de esta diversidad, el territorio nacional se ha dividido en cinco regiones apícolas bien definidas, como se muestra en la Figura 4. En cada una de ellas los recursos naturales determinan las características tanto de los ecosistemas de producción como los productos que se obtienen y se describen en la Tabla 2, en cuanto a sus características de humedad, color, aroma y sabor (Ochoa & Ortega, 2010).

Tabla 2. Regiones apícolas mexicanas

Regiones	Características
Del Norte	Vegetación xerófila con amplias zonas de pastizales, bosque espinoso y de coníferas. Los productos apícolas de esta región son derivados principalmente de mezquite, son de excelente calidad y las recolecciones se realizan de marzo a mayo y de agosto a octubre. Los estados que integran esta región son Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León y parte del norte de Tamaulipas y altiplano de San Luis Potosí.
De la Costa del Pacífico	Predomina el bosque tropical caducifolio y subcaducifolio, además de bosques espinosos y de coníferas. La época más importante de floración y producción es en octubre y diciembre. Forman parte de esta región los estados de Sinaloa, Nayarit, poniente de Jalisco, Michoacán, Colima, parte de Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

Tabla 2. Continuación

Regiones	Características
Del Golfo	<p>Predomina el bosque tropical perennifolio y bosque tropical caducifolio, encontrándose arboles como encino (<i>Quercus rugosa</i>), fresno (<i>Fraxinus excelsior</i> L.), sauce (<i>Salix alba</i>), álamo (<i>Populus alba</i>). Además existen zonas con cultivos de cítricos como: naranjo (<i>Citrus sinensis</i>), limón (<i>Citrus limonum</i> Risso), entre otros. En el ramo agropecuario la producción principal es de almendra, cacahuete, coco, plátano, piña y guayaba; Esta región se compone por los estados de Veracruz y parte del estado de Tabasco, Tamaulipas y la región huasteca de San Luis Potosí, Hidalgo y Querétaro.</p>
Del Altiplano	<p>Su vegetación es muy variada desde bosques espinosos, pastizales y bosques de coníferas, hasta zonas con bosques subtropicales y zonas agrícolas. Las especies de la región son pino (<i>Pinus sp</i>), encino (<i>Quercus rugosa</i>), cedro (<i>Cedrela odorata</i> L.), fresno (<i>Fraxinus excelsior</i> L), eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i>), sauce llorón (<i>Salix babylonica</i> L.), roble (<i>Quercus robur</i> L.) y trueno (<i>Ligustrum vulgare</i>). Árboles frutales: manzana (<i>Malus communis</i> L.), pera (<i>Pyrus communis</i> L.), ciruelos (<i>Prunus domestica</i>), durazno (<i>Prunus persica</i>), perón (<i>Capsicum pubescens</i>), tejocote (<i>Crataegus pubescens</i>) y capulín (<i>Prunus salicifolia</i>). Cactáceas: cactus (<i>Cereus coryne</i>), pitaya (<i>Hylocereus undatus</i>), nopalito (<i>Nopalxochia</i>). Hierbas medicinales: árnica (<i>Arnica montana</i> L.), romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>), ruda (<i>Ruta graveolens</i>), manzanilla (<i>Melissa officinalis</i>), yerbabuena (<i>Mentha sativa</i>), etc.</p>

Tabla 2. Continuación.

Regiones	Características
Del Altiplano	La recolección de los productos apícolas se da en abril a mayo y de septiembre a noviembre. Esta región se comprende de los estados de Tlaxcala, Puebla, Estado de México , Morelos, Guanajuato , Aguascalientes, la parte oriente del Estado de Jalisco, Michoacán , Guerrero, Oaxaca y Chiapas y parte predominante de Hidalgo y Querétaro, así como la región media San Luis Potosí.
Sureste o península de Yucatán	Su vegetación comprende bosques tropicales caducifolios y subcaducifolios con periodos de floración que van desde noviembre hasta julio. En esta región se encuentra el mayor número de colmenas del país, motivo por el cual su participación en la producción nacional de productos apícolas al 30-35%. El origen de la flora son la Dzidzilche y Tajonal. Está formada por el estado de Campeche, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas (Noreste) y Tabasco (Oriente)

(Hernández Hernández, 2015), con modificaciones.



Figura 4. Regiones apícolas de México.

(Ochoa & Ortega, 2010)

4.2.4 Propiedades farmacológicas

Como consecuencia de su variada composición, el propóleo posee propiedades beneficiosas, no solo para la colmena sino también para el ser humano. A partir de la década de los 60 se efectúan las primeras investigaciones científicas que develan la compleja composición de los propóleos y ponen de manifiesto numerosas aplicaciones farmacológicas, por lo que hoy se tiene respuesta a muchos interrogantes acerca de los mecanismos de acción que explican sus propiedades antimicrobianas, cicatrizantes, estimulantes del sistema inmunológico y antioxidantes (Crone, 1999), (Noriega Salmón, 2014).

4.2.5 Propiedades antimicrobianas

La compleja composición le confiere a los propóleos actividad antibacteriana, antimicótica y antiviral.

4.2.5.1 Actividad antibacteriana

Fue una de las primeras propiedades constatadas. Múltiples estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro* confirmaron su acción bacteriostática y bactericida. Los principales responsables de esta propiedad son los flavonoides galangina y pinocembrina y derivados de los ácidos benzoico, ferúlico y caféico (Fierro Morales, 2000), (Toreti, Sato, Pastore, & Park, 2013). La inhibición del crecimiento bacteriano es muy elevada frente a las bacterias Gram positivas (G+) mientras que las bacterias Gram negativas (G-), esta actividad es mucho menor o nula (Vargas *et al.*, 2013).

Un estudio realizado en el Instituto de Investigación Zenyaku Kogyo Co, llevado a cabo por Itoh y col., evaluó la capacidad antimicrobiana de diferentes propóleos ante *Helicobacter pylori*. Existe un cúmulo de evidencias que atribuye a esta bacteria la génesis de la gastritis, úlcera gastroduodenal e incluso el cáncer gástrico. Una

muestra de propóleo de origen argentino demostró poseer la mayor capacidad ante esta bacteria, siendo los principales responsables los flavonoides: pinocembrina en primer lugar y luego galangina y crisina (Fierro Morales, 2000), (Noriega Salmón, 2014). Los tratamientos actuales consisten en la utilización de uno o más antibióticos, costosos, de eficacia dudosa y no exenta de efectos secundarios.

Un estudio realizado en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford (1997), publicado en *Microbiologie Research*, informa que el ácido cinámico y algunos flavonoides desactivan la energía de la membrana citoplasmática, inhibiendo la motilidad bacteriana, haciéndolas más vulnerables al ataque del sistema inmunológico y potenciando los antibióticos (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

4.2.5.2 Actividad antimicótica

El propóleo ha demostrado efectos fungicidas al descomponer varias cepas de hongos en especies de *Candida*. Su efecto fungicida se asoció con la presencia de flavonoides. La cepa más sensible fue la *Rhodotorula spp* y la más resistente fue la *Candida albicans* (Wagh, 2013).

4.2.5.3 Actividad antiviral

En Francia, Amoros y Sauvager de la Facultad de Medicina de Rennes (1994), confirmaron la acción viricida frente al herpes tipo 1 y 2, pero también ante poliovirus. Establecieron que reduce la síntesis del ADN viral y que los responsables son flavonoides, que actúan en sinergismo con un éster del ácido caféico y el ácido ferúlico (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Otro tipo de patología viral que responde favorablemente al propóleo es el herpes zoster, patología con expresión cutánea, dolorosa y de pobre respuesta a los tratamientos convencionales. Tratado precozmente en el período eruptivo, la

remisión se acorta y se evita la neuralgia postherpética. Otro virus como el VIH, también ha llamado la atención.

Un grupo de investigadores del Albert Einstein College of Medicine de Nueva York, publicaron en 1997 un trabajo donde determinaron la capacidad del propóleo de suprimir la replicación del VIH-1 y su efecto inmunoestimulante (Fierro Morales, 2000), (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

Las propiedades antimicrobianas, bacteriostáticas y bactericidas son debidas fundamentalmente a las flavonas galangina y pinocembrina, pero también a los ácidos benzoicos, oxibenzoico, metabenzoico, caféico, ferúlico y sesquiterpenos. Sin embargo, (Santos *et al.*, 2002), concluyen que ninguna de las fracciones obtenidas a partir de extractos hidroalcohólicos es más activa que el extracto íntegro, sugiriendo de este modo que la actividad antimicrobiana es debida a los efectos sinérgicos de varios principios activos. Se podría concluir que el propóleo tiene un verdadero valor farmacológico como componente natural de procedencia vegetal y no como fuente de unos nuevos potenciales componentes antibacterianos, antimicóticos o antivirales. Así, el propóleo se utiliza en enfermedades infecciosas y es considerado, en la actualidad como el antibiótico natural por excelencia (Saiz Cayuela & Serrano, 2003).

4.2.6 Actividad cicatrizante y antiinflamatoria

El propóleo ganó espacios importantes en el tratamiento de heridas por su capacidad antibacteriana y por su notable capacidad cicatrizante y antiinflamatoria. Esto último es comparable a la de antiinflamatorios de síntesis como el diclofenaco. Se señaló al ácido caféico como responsable de inhibir la dihidrofolato reductasa, reduciendo la producción de interleucinas y prostaglandinas.

En 1996 en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Oxford, los investigadores atribuyen esta acción del propóleo a un éster del ácido caféico

(CAPE), al ácido caféico y a la quercetina. Actuando a nivel de los macrófagos, suprime la producción de prostaglandinas y leucotrienos. Empleando modelos *in vivo* e *in vitro* constataron que el propóleo suprime la vía de la lipooxigenasa del ácido araquidónico (Fierro Morales, 2000), (Bedascarrasbure *et al.*, 2006).

4.2.7 Actividad inmunomoduladora

Diversos trabajos demuestran que el propóleo estimula la inmunidad inespecífica y la específica, tanto inmunidad celular (linfocitos T) como la humoral (linfocitos B). En ratones infectados con el virus influenza tipo A y tratados con propóleos, se constató un aumento de los linfocitos T, un mayor nivel de fagocitosis y una menor mortalidad, en comparación con animales testigo no tratados. Los autores determinaron que se estimula la liberación del factor inhibidor de la migración de los leucocitos (Bedascarrasbure *et al.*, 2006), (Fierro Morales, 2000).

4.2.8 Actividad antioxidante

Las propiedades antioxidantes de propóleos se deben a la actividad antirradical y al efecto inhibitor sobre los iones metálicos que éstos poseen (Gülçin, Bursal, Sehitoglu, Bilsel, & Gören, 2010), (Mendes da Silva, de Souza, Ramalho Matta, Ribeiro de Andrade, & Nova Vidal, 2006), demostraron que los extractos etanólicos de propóleos brasileños probados *in vitro* poseen alta capacidad antioxidante para atrapar radicales libres y correlacionaron esta actividad con el alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides.

Yang *et al.* (2011), encontraron que posee la habilidad de atrapar radicales libres, lo que demuestra que éste es uno de los mecanismos mediante el cual el propóleo ejerce su potencial antioxidante. En otra Investigación realizada por Gülçin *et al.* (2010), se demostró que el propóleo posee la habilidad para quelar los iones Fe^{3+} , Cu^{2+} y Fe^{2+} e inhibir la peroxidación lipídica.

4.3 Métodos de Recolección.

4.3.1 Método artesanal o método de raspado

La recolección de propóleo se efectúa mediante una espátula, desprendiendo el propóleo de aquellas zonas donde se encuentra adherido en la colmena como: ángulos, marcos, piezas metálicas y piqueras. Es recomendable utilizar una espátula de acero inoxidable sin mucho filo para reducir el riesgo de arrastrar virutas de maderas. Cuidar de no raspar donde haya pintura sobre la madera, pues éste es uno de los mayores responsables de la contaminación del propóleo.

La recolección se debe realizar con las manos y espátula libres de restos de miel, tierra o cualquier otra sustancia que pueda contaminarlo, como se observa en la Figura 5. Durante la cosecha, el propóleo no debe exponerse a la incidencia directa de los rayos solares, evitándose su almacenamiento cerca de fuentes de calor. No debe mezclarse con la cera que se encuentra en la tapa, entre los marcos y sobre ellos (López del Villar & Ubillús Celi, 2004).

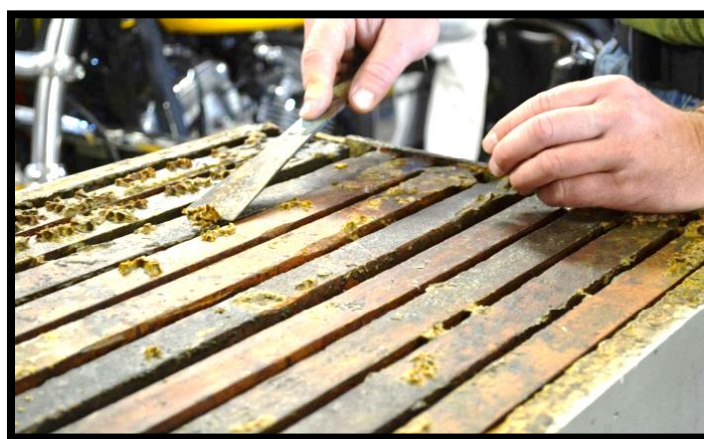


Figura 5. Método de raspado para recolectar propóleo.

(Texon Juárez, 2012)

Siempre debe tratar de evitarse que el propóleo se compacte. Para lograrlo, el propóleo recolectado no se debe comprimir con las manos para formar pelotas, por

el contrario, se debe mantener en forma de escamas y/o trozos sueltos para evitar que las valiosas propiedades de este producto puedan ser disminuidas.

Los propóleos procedentes de diferentes zonas de recolección no se deben mezclar. Los medios de transporte para trasladar la producción de éste producto deben estar limpios, secos, libres de combustibles u otras sustancias tóxicas que le impregnan olores y sabores extraños que afectan la calidad del mismo (López del Villar & Ubillús Celi, 2004).

4.3.2 Método técnico o método de mallas

Otra forma de recolección consiste en colocar sobre los cuadros de la colmena una parrilla de plástico que rápidamente será propolizada por las abejas, siendo el propóleo obtenido fácilmente mediante el raspado. Para facilitar su recolección se introduce la parrilla en el congelador hasta que quede rígido y así se desprenderá más fácilmente. En la Figura 6 se ilustra el método de recolección antes mencionado.



Figura 6. Método de mallas para recolectar propóleo.

(Texon Juárez, 2012)

El propóleo recogido se introduce en agua hirviendo de manera que se separe la cera, astillas y abejas muertas. El propóleo obtenido tendrá una consistencia

parecida al chicle y con un buen aroma. Las mallas metálicas no sirven porque contaminan el propóleo y las de fibra de vidrio tienden a romperse en el primer intento de manipuleo. La malla que se vaya a utilizar es conveniente instalarlas en primavera y en otoño, pudiendo ser retiradas en cualquier época del año. Congelar entre -10 °C y -20 °C durante por lo menos una hora, para que la resina se torne rígida y frágil, fácil de separar la malla mediante manipuleo (López del Villar & Ubillús Celi, 2004).

Muchos consideran que este método es más económico y también más duradera, pues no se quiebra por los sucesivos cambios de temperatura y manipulación, y que las superficies son mayores, por lo que se recolecta más propóleo en cada extracción (Hernández Camacho, 2013).

4.3.3 Limpieza, almacenamiento y conservación

El primer paso luego de obtenido el propóleo es la limpieza del mismo con una pinza, retirando contaminantes macroscópicos como abejas, trozos de madera, pasto, etc. Se deben eliminar también aquellos trozos de propóleo que puedan tener pintura adherida ya que ésta es una de las principales fuentes de contaminación de plomo.

Es útil disponer de una bandeja de dimensiones apropiadas para depositar éste producto, mientras se procede a su inspección. Es conveniente que la bandeja sea de pocos centímetros de altura, de material plástico o de madera, que esté ubicada sobre una mesa, apropiadamente iluminada para que el operario trabaje cómodamente.

Para que no se pierdan o se alteren las propiedades del propóleo recolectado es recomendable acopiarlo en bolsas de plástico, hasta que sea utilizado para su procesamiento. Se debe tener la precaución de no almacenar grandes volúmenes, para evitar que se compacte reduciendo significativamente la calidad de éste

producto. Es prudente guardar estas bolsas dentro de cajas de cartón, madera o un recipiente apropiado que lo proteja de las altas temperaturas y en especial de la luz. Otra posibilidad sería conservarlo en frascos de vidrio de color ámbar.

En general, si el propóleo recolectado se va a almacenar por largo tiempo, se debe conservar sometiéndolo a temperaturas que oscilen entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas. Se pueden utilizar los refrigeradores de uso doméstico. Una vez retirado del mismo, no se debe dejar expuesto al aire ya que tiende a condensar la humedad del ambiente. Es conveniente cubrirlo con un plástico hasta que alcance la temperatura del lugar donde se conservará.

El almacenamiento se realizará en locales limpios, libres de roedores y plagas, secos, ventilados, separándolo del piso y de las paredes. Nunca se debe almacenar el propóleo a la intemperie, ni cerca de fuentes de contaminación como son las acumulaciones de panales viejos o material apícola en desuso después de la cosecha. Si por alguna razón, y a pesar de las medidas de conservación aplicada se detectan fragmentos de propóleos atacados por la polilla, el mismo se debe separar inmediatamente y destruirlo.

Posteriormente se debe inspeccionar el resto de las muestras para descubrir y eliminar en caso necesario cualquier otro foco de contaminación. A modo de seguridad, la muestra que presentó polillas se debe someter a congelamiento utilizando las condiciones previamente establecidas. No deberá tener más de dos años de envejecimiento. El propóleo de primera clase, que alcanza su máxima cotización en el mercado, ofrece el aspecto de un material seco, granuloso y laxo, con textura finamente laminar y color variable oscuro (López del Villar & Ubillús Celi, 2004).

4.4 Calidad de propóleos

La calidad del propóleo está directamente relacionada con los métodos de recolección, almacenamiento y conservación. En este sentido la calidad depende del tipo de flora, características ambientales, lugar de procedencia, región de la colmena donde se extrajo y método de recolección utilizada (trabajo del apicultor) (Rodríguez Pérez, 2015). Las propiedades biológicas que los propóleos poseen pueden ser aprovechadas en la industria farmacéutica, alimentaria, cosmética o química. Tales propiedades son dependientes de su composición química, lo que hace necesario establecer un marco normativo para evaluar la calidad o características, así como, las propiedades y límites de seguridad de este producto (Peña, 2008).

Existen antecedentes del uso del propóleo en suplementos y a nivel de investigación, en algunos productos alimenticios. Para que la calidad del propóleo sea considerada aceptable debe cumplir ciertos requisitos, tales como: estar **libre de residuos tóxicos**; poseer bajo contenido de cera, materia insoluble y cenizas; tener un origen botánico y una actividad biológica comprobada (Vargas *et al.*, 2013).

Actualmente en México se publicó en el Diario Oficial de la Federación, el Proyecto de Norma PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento; y tiene por objeto establecer las especificaciones de producción, características físicas, químicas y microbiológicas, que deben cumplir los propóleos y sus extractos para su procesamiento y comercialización en el país; con la finalidad de que los productores adopten medidas destinadas a proteger la salud de la población (SAGARPA, 2016). Los parámetros de evaluación de acuerdo a éste proyecto de norma se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Parámetros de evaluación de los propóleos

Especificaciones Físicas	Especificaciones Químicas	Actividad antimicrobiana Pruebas de inhibición
<ul style="list-style-type: none"> • Color • Aroma • Sabor • Consistencia 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de flavonoides • Presencia de fenoles • Índice de oxidación • Cuantificación de compuestos fenólicos • Cuantificación de flavonoides • Actividad antioxidante 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Candida albicans</i>

(SAGARPA, 2016)

Sin embargo, aún no se ha establecido el **control de contaminantes** como metales pesados en particular **PLOMO** y ante este panorama se requiere establecer su especificación con el propósito de no llegar a transgredir límites que atenten contra la vida humana.

4.5 Contaminación de propóleos

El propóleo puede estar contaminado, al igual que el resto de los productos apícolas, debido a su exposición al medio ambiente. Existen trabajos, donde se determinaron diversos tipos de agentes contaminantes en el propóleos tales como tetraciclinas, hidrocarburos policíclicos aromáticos, pesticidas, **metales pesados**, entre otros (Bogdanov, 2005). La determinación de metales pesados es de interés, por su alta toxicidad y efectos nocivos para la salud.

El aire y el suelo contienen metales pesados, principalmente de la industria y por la combustión de gasolina con antidetonantes a base de plomo, los arseniatos de

plomo que se emplean en grandes cantidades como insecticidas para la protección de los cultivos, entre otros. El plomo (Pb) y cadmio (Cd) son considerados los principales metales pesados tóxicos y por lo tanto se estudian con mayor frecuencia (Bogdanov, 2005).

En la literatura hay estudios que indican que la contaminación del medio ambiente, produce un aumento de residuos sobre el cuerpo de las abejas y de su mortalidad. Debido a que su cuerpo está recubierto de pelos lo que permite retener las sustancias con las que entra en contacto, es altamente sensible a la mayoría de los productos fitosanitarios, tienen una gran movilidad y autonomía de vuelo (explora una superficie de recolección de aproximadamente 7 km²) y realiza varias inspecciones por día en un mismo lugar. Además, la abeja entra en contacto con varios sectores del medio ambiente (agua, aire, suelo, vegetación), esto trae como consecuencia daños en la colmena y la contaminación de sus productos. La Figura 7. Representa el esquema de la interacción entre la abeja y el medio ambiente (Dario Pierini, 2014).

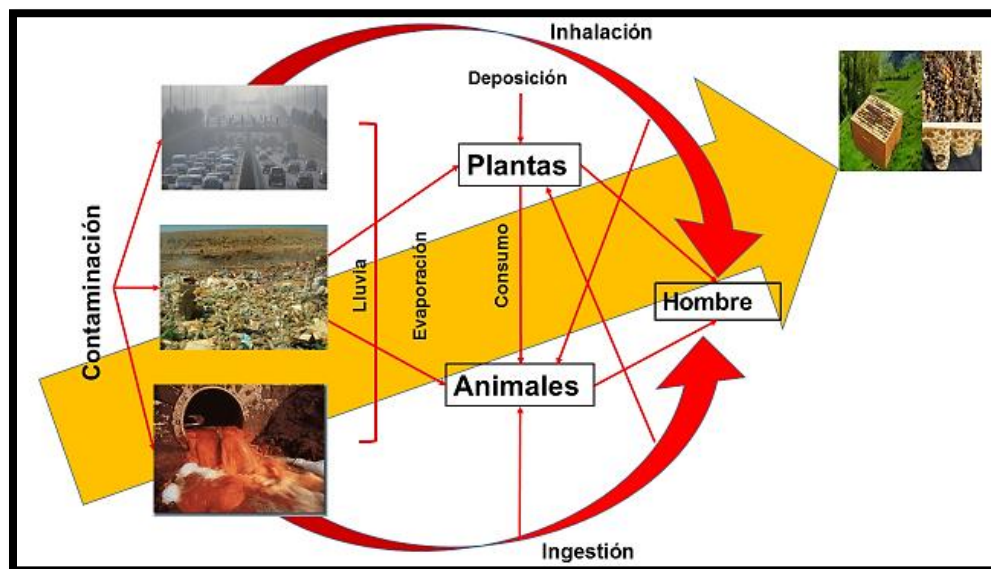


Figura 7. Interacción entre la abeja y distintas fuentes de contaminación del medio ambiente.
Elaborada por Benítez Sandoval (2016).

4.6 Plomo

El plomo (del latín *plumbum*) se denomina con el símbolo Pb, es un metal gris, blando y maleable, presente de forma natural en la corteza terrestre (Azcona Cruz, Ramírez Ayala, & Vicente Flores, 2015). Ver Figura 8. Es un elemento que químicamente se considera un metal pesado y se ubica en la tabla periódica en el periodo 6 y grupo IV A, con número atómico 82 y peso atómico de 207.2.

Sus características físicas podemos citar que es de color gris plateado, punto de ebullición de 1725 °C, punto de fusión 327.4 °C y densidad de 11.4 g/mL, se encuentra de forma natural en estado sólido y no es biodegradable, no tiene capacidad elástica, tiene una excelente maleabilidad, muy resistente a la corrosión, se funde con facilidad a elevadas temperaturas, forma con facilidad aleaciones, dúctil, baja conductividad, bajo punto de fusión que han favorecido su uso desde épocas antiguas, en múltiples aplicaciones de la actividades del ser humano (Rodríguez Rey, Cuéllar Luna, Maldonado Cantillo, & Suardiaz Espinosa, 2016).

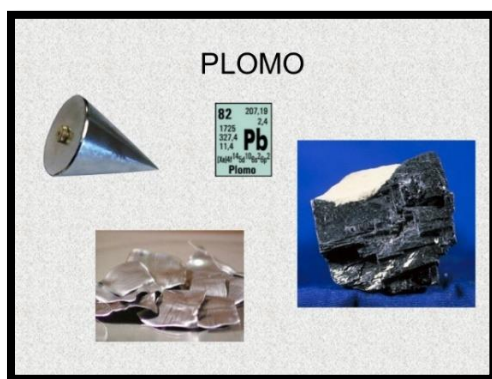


Figura 8. Características del plomo en su estado sólido.

(Benítez Cele, 2013)

Su uso generalizado ha tenido gran impacto en la contaminación ambiental y, en consecuencia, un incremento considerable en su exposición a la población que ha generado graves problemas de salud pública. Entre las principales fuentes de contaminación ambiental destacan la explotación minera, metalurgia y en algunos

países el uso persistente de pinturas, gasolinas y aditivos. Este metal también se utiliza en muchos otros productos de uso cotidiano (baterías plomo-ácido, materiales de plomería, cables de revestimiento, recipientes de cerámica, juguetes, cosméticos, pigmentos (Azcona *et al.*, 2015).

4.6.1 Toxicocinética

4.6.1.1 Absorción

El plomo puede ingresar al cuerpo humano por tres vías:

- Respiratoria
- Digestiva
- Dérmica o cutánea.

El plomo solo puede acceder por las dos primeras y no puede ser metabolizado por el organismo, mientras que los compuestos de plomo como el tetraetilo de plomo pueden penetrar por cualquiera de estas vías (ver Figura 9).

Respiratoria: El plomo que se absorbe por esta vía es cercano al 40% depositado en los pulmones, se encuentra en sangre circulándose alrededor de 50 horas, pasándose un porcentaje a tejidos, o es eliminado, aunque cierta cantidad de absorción puede llevarse a cabo en las vías aéreas superiores, la porción más relevante tiene lugar en las vías respiratorias inferiores, a nivel de alvéolo, a través de la circulación pulmonar (Rodríguez *et al.*, 2016).

Digestiva: El plomo se fija en la saliva y se traga, seguido por el tracto digestivo y se debe al ingreso por alimentos, en adultos se absorbe el 10%, mientras que los niños absorben hasta el 50% del plomo ingerido. Por otra parte, los niños tienden a retener mayor concentración del plomo absorbido que los adultos, el porcentaje se puede cuantificar respectivamente en un 30% y 5%, respectivamente.

Dérmica o cutánea: El plomo que atraviesa la piel pasa a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríparas directamente al torrente sanguíneo (Rubio *et al.*, 2004).

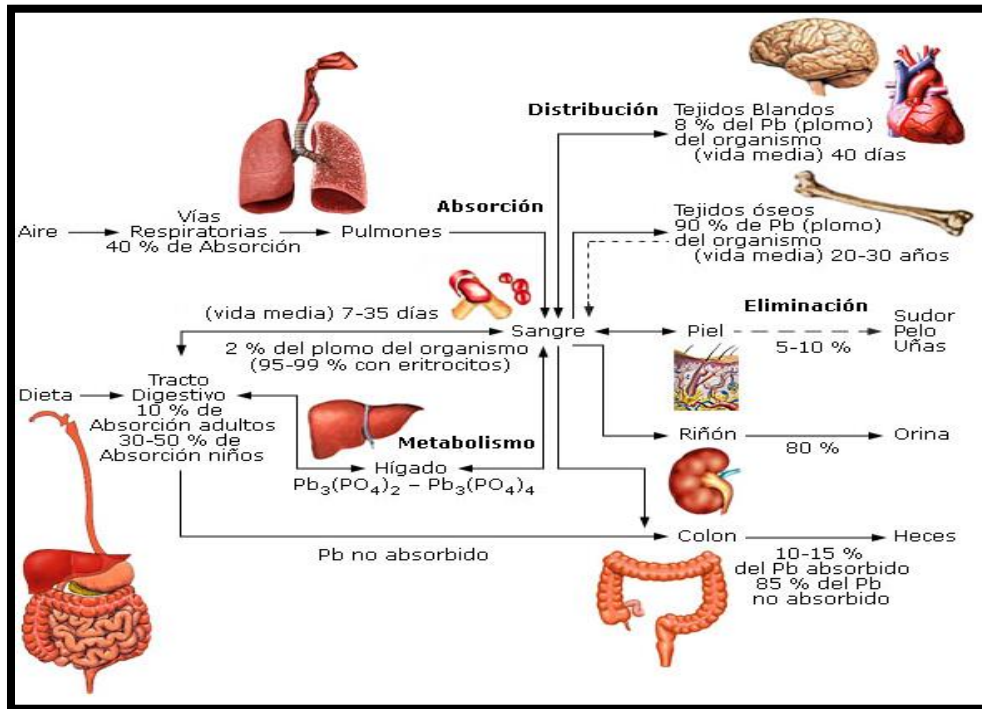


Figura 9. Toxicocinética de plomo en el organismo humano.

(Rodríguez *et al.*, 2016)

4.6.1.2 Distribución y almacenamiento.

Luego de su absorción el plomo se distribuye en tres compartimentos en el organismo, el metal absorbido pasa al torrente sanguíneo, es transportado por los glóbulos rojos unidos a las proteínas del plasma en un 95%, luego es distribuido por la sangre hacia los huesos y tejidos blandos (hígado, riñón, médula ósea y sistema nervioso central); la vida media del metal en sangre es de 35 días, en tejidos blandos de 40 días y en los huesos 27 años, es por ello que está presente en mayor porcentaje en los huesos. Esta ruta de distribución del plomo parece ser similar en niños y adultos; aunque en los adultos el mayor almacenamiento es en los huesos

(Rodríguez *et al.*, 2016). La Figura 10, representa la distribución plomo en el organismo humano.

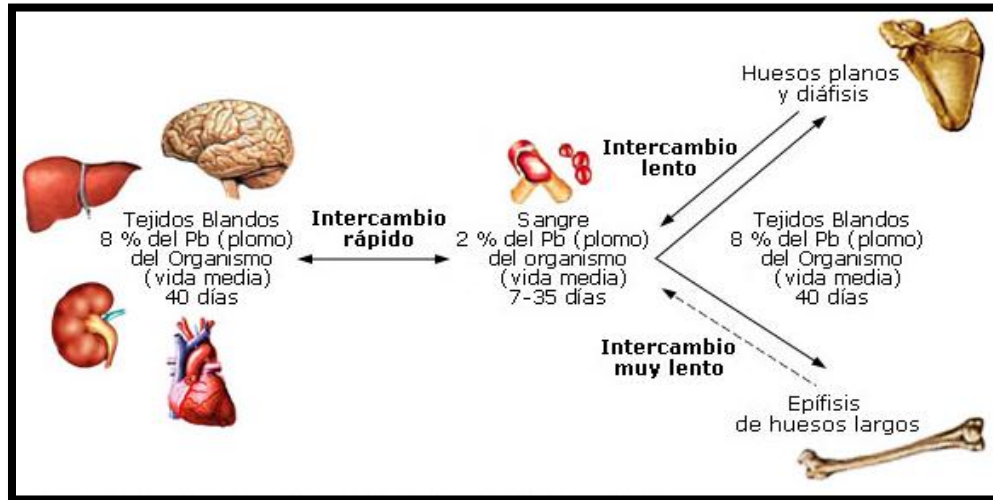


Figura 10. Distribución del plomo, modelo de los tres compartimentos en el organismo humano.

(Rodríguez *et al.*, 2016)

4.6.1.3 Eliminación, metabolismo o biotransformación

El plomo puede ser excretado por diferentes vías, son las principales y las de mayor importancia toxicológica, la fecal y la renal. Por vía fecal se elimina cerca del 85 % del plomo no absorbido y por vía renal se desecha un aproximado del 80% del plomo absorbido. Otras vías de excreción son el cabello, el sudor, la leche materna, la descamación de la piel y los dientes. Ver Figura 9.

El plomo tiene muy baja biotransformación. El plomo no se metaboliza, solo se absorbe, se distribuye, se acumula y se excreta de forma directa, sin embargo, el fosfato de plomo (II) sufre un proceso de transformación escasa donde pasa a fosfato de plomo (IV), ver Figura 9, el cual es menos soluble y por tanto se excreta en menor proporción, lo que aumenta la concentración y acumulación en el organismo (Rodríguez *et al.*, 2016).

Un adulto sano no expuesto al plomo ingiere diariamente de 0.3 a 0.5 mg de este metal, el 80% del mismo es eliminado por el riñón. Si la ingesta es superior a 0.6 mg/día el plomo se acumula y puede provocar una intoxicación. Sin embargo, el contenido medio de plomo en los productos alimenticios no parece ser causa de alarma, pero debe proseguirse la acción a largo plazo con el objetivo de continuar reduciendo los contenidos medios de plomo en los productos alimenticios (Rubio *et al.*, 2004).

4.6.2 Toxicodinamia

El plomo tiene gran afinidad por los grupos sulfhidrilo, en especial por las enzimas dependientes de zinc. El mecanismo de acción es complejo; en primer lugar el plomo interfiere con el metabolismo del calcio, sobre todo cuando el metal está en concentraciones bajas, el plomo altera el calcio de las siguientes formas (Valdivia Infantas, 2005).

- a) Reemplaza al calcio y se comporta como un segundo mensajero intracelular, alterando la distribución del calcio en los compartimentos dentro de la célula.
- b) Activa la proteinquinasa C, una enzima que depende del calcio y que interviene en múltiples procesos intracelulares.
- c) Se une a la calmodulina más ávidamente que el calcio, ésta es una proteína reguladora importante.
- d) Inhibe la bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$, lo que activa $\text{Ca}^{2+}\text{ATPasa}$.

Finalmente esta alteración a nivel del calcio trae consecuencias en la neurotransmisión y en el tono vascular lo que explica en parte la hipertensión y la neurotoxicidad (Valdivia Infantas, 2005).

Por otro lado, el plomo es tóxico para las enzimas dependientes del zinc, los órganos más sensibles a la toxicidad son el sistema hematopoyético, el sistema nervioso central y el riñón. Interfiere con la síntesis del hem, ya que se une a los

grupos sulfhidrilos de las metaloenzimas como son la *d*-aminolevulínico deshidratasa, coproporfirinógeno oxidasa y la ferroquelatasa, siendo el resultado final, el aumento de las protoporfirinas como la zinc-protoporfirina (ZPP) y la anemia (Valdivia Infantas, 2005). Ver Figura 11.

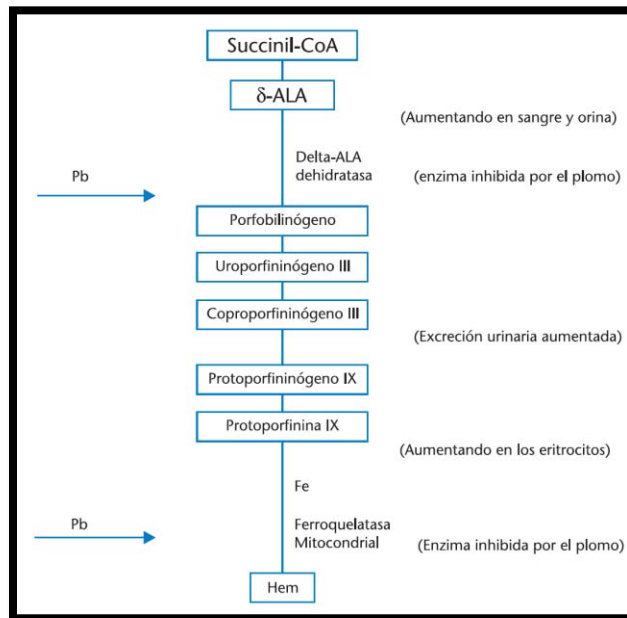


Figura 11. Efectos del plomo en la síntesis del hem.

(Valdivia Infantas, 2005)

A nivel renal interfiere con la conversión de la previtamina D3 (colecalciferol) a su forma activa (1,25-dihidroxicalciferol), hay inclusiones intranucleares en los túbulos renales, produce una tubulopatía, que en estadios más avanzados llega a atrofia tubular y fibrosis sin compromiso glomerular, caracterizándose por una proteinuria selectiva. En niños se puede ver un síndrome semejante al de Fanconi, con aminoaciduria, glucosuria, e hipofosfatemia, sobre todo en aquellos con plumbemias altas (Valdivia Infantas, 2005).

Varias funciones del sistema nervioso central están comprometidas, principalmente porque el plomo altera en muchos pasos el metabolismo y función del calcio como explicamos previamente. El plomo se acumula en el espacio endoneural de los

nervios periféricos causando edema, aumento de la presión en dicho espacio y finalmente daño axonal.

El plomo depositado en el hueso es importante por tres razones:

- a) En el hueso se realiza la medición más significativa de exposición acumulada al plomo. Actualmente en Estados Unidos y México se usan los rayos X fluorescentes que permiten la medición de plomo en el hueso (tibia), como un indicador de exposición y acumulación, en muchos casos ayuda más que una prueba de plumbemia y/o una protoporfirina-zinc (ZPP), la concentración de plomo en la tibia correlaciona muy bien con la exposición acumulativa al plomo, es un método no invasivo e indoloro que por su alto costo sólo se usa con fines de investigación.
- b) El hueso es reservorio del plomo (95% del plomo corporal total está en el tejido óseo) y puede aumentar en sangre cuando existan procesos fisiológicos o patológicos que provoquen resorción ósea como embarazo, lactancia, hipertiroidismo, inmovilización, sepsis.
- c) También es órgano blanco, ya que el plomo altera el desarrollo óseo (Valdivia Infantas, 2005).

4.6.3 Manifestaciones clínicas

La concentración de plomo en la sangre promueve manifestaciones clínicas particulares donde la progresión de daños en los infantes inicia con concentraciones menores que en adultos.

La toxicidad aguda se manifiesta con insuficiencia renal, encefalopatía y síntomas gastrointestinales; en la toxicidad crónica, que es más frecuente, se comprometen los sistemas hematopoyético, nervioso, gastrointestinal y reproductor. Diversos

pacientes refieren dolor abdominal (cólico saturnínico), astenia, irritabilidad y estreñimiento; en algunos casos se puede observar el ribete de Burton o línea de sulfuro y, en una situación de alta exposición, puede ocurrir polineuropatía periférica que afecte los miembros superiores, entre otros, varios de los síntomas y signos se muestran en la Tabla 4., (Azcona *et al.*, 2015).

Tabla 4. Manifestaciones clínicas de intoxicación por plomo.

Sistema	Toxicidad
Sistema nervioso central	Fatiga , malestar
	Irritabilidad, ánimo deprimido
	Disminución la libido
	Alteración de la función neuropsicológica
	Cefalea
	Tremor
Sistema nervioso periférico	Encefalopatía (delirio, ataxia, convulsión, estupor, coma)
	Debilidad motora
Gastrointestinal	Anorexia
	Náusea
	Constipación
	Pérdida de peso
	Dolor abdominal (Saturnismo)
	Ribete de Burton
Sangre (hem)	Anemia (hipocrómica; microcítica o normocítica)
	Punteado basófilo
Renal	Insuficiencia renal crónica
	Nefritis intersticial
	Proteinuria leve
Reumatológico	Mialgias, artralgias
	Gota
Cardiovascular	Hipertensión
Reproductivo	Oligospermia

(Valdivia Infantas, 2005)

En niños de 3 a 5 años de edad se ha reportado que se generan problemas emocionales, de conducta y aprendizaje, mismos que pueden perdurar hasta la

etapa adulta en donde se observan otras afectaciones como depresión, falta de libido, disminución del desempeño cognitivo e irritabilidad. Existen además complicaciones que pueden presentarse durante el embarazo en madres con plumbemia como preeclampsia y anomalías en el recién nacido (Azcona *et al.*, 2015).

4.6.4 Concentración de plomo en sangre

El plomo en sangre se correlaciona directamente con las manifestaciones clínicas, la encefalopatía plúmbica ocurre con plumbemias mayores de 80 µg/dL, el deterioro cognitivo con 50 µg/dL, la nefropatía con 40 µg/dL, la neuropatía periférica con 20 µg/dL, y la anemia se ha reportado con valores tan bajos como 10 µg/dL y hasta tan altos como 40 µg/dL.

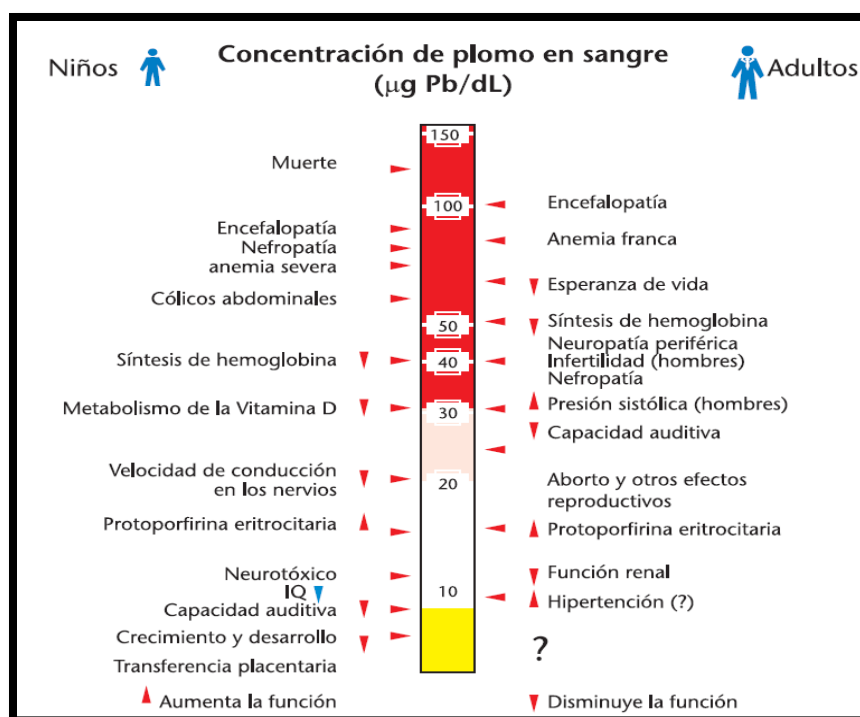


Figura 12. Plumbemia y manifestaciones clínicas.

(Valdivia Infantas, 2005)

Se ha reportado deterioro intelectual en niños (Canfield *et al.*, 2003) y retardo de la pubertad en niñas con valores debajo de 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ e hipertensión e insuficiencia renal en adultos con valores tan bajos de entre 4 a 6 $\mu\text{g}/\text{dL}$ (Vupputuri *et al.*, 2009), (Lin, Tan, Hsu, & Yu, 2001). El Centro de Prevención y Control de Enfermedades de Estados Unidos recomienda intervención médica con niveles mayores de 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ y 25 $\mu\text{g}/\text{dL}$ en niños y adultos respectivamente. Según la Occupational Safety and Health (OSHA) con valores mayores a 40 $\mu\text{g}/\text{dL}$ un adulto debe alejarse del trabajo (Valdivia Infantas, 2005). En la Figura 12 se muestran las plumbemias y su correlación clínica.

4.7 Espectrofotometría de absorción atómica

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica analítica para la determinación cuantitativa o cualitativa de un elemento en una muestra. Está basada en la absorción de la radiación de energía por los átomos libres, tiene como fundamento la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos, está determinada por la ley de Beer, que relaciona esta pérdida de poder radiante, con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la celda que contiene los átomos absorbedores (Rocha Castro, 2000).

Para entender más la técnica, es necesario iniciar con el estudio del átomo. El átomo está compuesto de un núcleo rodeado de electrones. Cada elemento tiene un número específico de electrones, mismos que ocupan orbitales definidos. El estado de energía más bajo corresponde a la configuración electrónica del átomo conocida como estado basal o fundamental. Si se aplica la energía correcta a un átomo, dicha energía será absorbida por el átomo y un electrón externo será promovido a un estado menos estable o estado excitado, como se muestra en la Figura 13. Como este estado es inestable, el átomo inmediata y espontáneamente retomará a su

posición estable y será emitida una energía radiante equivalente a la cantidad de energía absorbida inicialmente en el proceso de excitación (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2010).

Si luz de una determinada longitud de onda incide sobre un átomo libre en estado fundamental, el átomo puede absorber energía y pasar al estado excitado en un proceso conocido como absorción atómica. La propiedad de un átomo de absorber luz de una longitud de onda específica, es utilizada en espectrofotometría de absorción atómica (Harris, 2012).

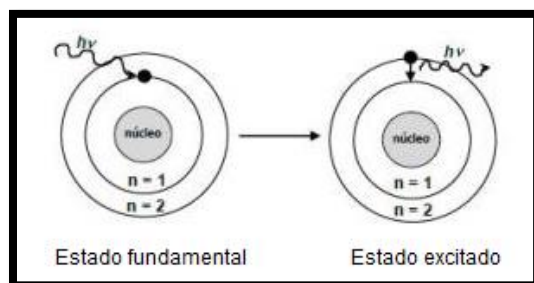


Figura 13. Proceso de absorción atómica

(Skoog et al., 2010)

La cantidad de medida de interés en absorción atómica, es la medida de la luz a cierta longitud de onda, la cual es absorbida cuando la luz pasa a través de una nube de átomos. Cuando el número de átomos en la trayectoria de la luz incrementa, la cantidad de la luz absorbida incrementa en una forma predecible. Midiendo la cantidad de la luz absorbida, puede realizarse una determinación cuantitativa de la cantidad del elemento presente. El uso de fuentes de luz especiales y una cuidadosa selección de longitud de onda permite la determinación cuantitativa de los elementos individuales en la presencia de otros. La nube de átomos requerida para mediciones de absorción atómica es producida proporcionando la energía térmica suficiente para la disociación de los compuestos químicos en átomos libres. Aspirando una solución de la muestra en una flama alineada en el haz de luz sirve para este propósito. Bajo las condiciones propias de

la flama, la mayoría de los átomos permanecerán en estado fundamental y serán capaces de absorber la luz a la longitud de onda analítica de una fuente de luz. La velocidad y facilidad a la cual puede hacerse una determinación precisa y exacta con ésta técnica, hace que la absorción atómica sea uno de los métodos más populares para la determinación de metales (Harris, 2012).

La luz a la longitud de onda específica con intensidad inicial, I_0 , es enfocada a la flama que contiene átomos en estado basal. La intensidad de la luz inicial es disminuida por una cantidad determinada de concentración de átomos en la flama. La luz es dirigida a un detector donde la intensidad reducida, I , es medida. La cantidad de luz absorbida es determinada por comparar I e I_0 (Harris, 2012). Ver Figura 14.

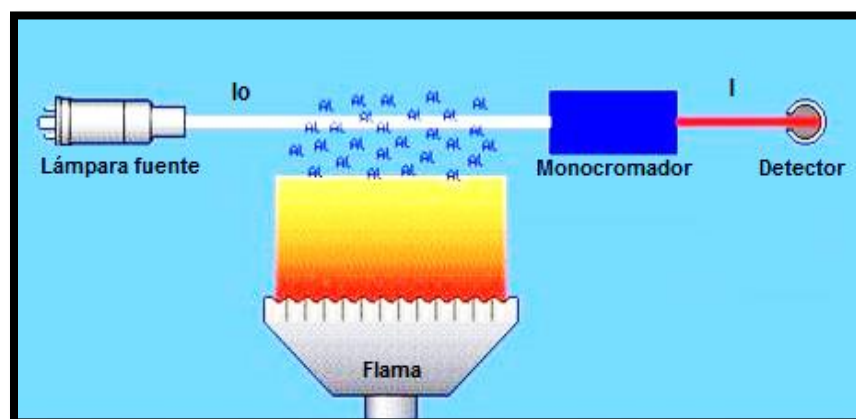


Figura 14. Proceso del análisis cuantitativo por absorción atómica.

(Navarro Frómata, 2013)

La absorbancia es el término más conveniente para caracterizar la luz absorbida en la espectrofotometría de absorción, pues esta cantidad tiene una relación lineal con la concentración:

La absorbancia A , es una cantidad puramente matemática

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

La ley de Beer define esta relación:

$$A = abc$$

Donde:

A, es la absorbancia.

a, es el coeficiente de absorción, una característica de las especies absorbentes a una longitud de onda específica.

b, es la longitud del paso de luz ocupado por la celda de absorción.

c, es la concentración de las especies que absorben en la celda de absorción.

Esta ecuación simplemente establece que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente para un conjunto dado de condiciones instrumentales (Skoog *et al.*, 2010).

Cuando la absorbancia de las soluciones patrón conteniendo concentraciones conocidas del analito se mide y se grafican los resultados de las absorbancias con respecto a la concentración, se establece una relación de calibración. En la región en la cual se observa la relación de la Ley de Beer, la calibración produce una línea recta (Skoog, *et al.*, 2010).

Después de que se establece la calibración, se puede medir la absorbancia de las soluciones de concentración desconocida y su concentración directamente a la curva de calibración (Harris, 2012).

4.7.1 Componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica

Los componentes instrumentales de un equipo de espectrofotometría de absorción atómica deben tener lo siguiente:

- a. Una fuente de radiación que emita una línea específica correspondiente a la necesaria para efectuar una transición en los átomos del elemento analizado. La fuente más ampliamente utilizada es la lámpara de cátodo hueco. Estas

lámparas están diseñadas para emitir el espectro atómico de un elemento en particular. La lámpara se selecciona dependiendo del elemento a determinar.

- b. Un nebulizador, que por aspiración de la muestra líquida, forme pequeñas gotas para una atomización más eficiente.
- c. Un quemador, en el cual por efecto de la temperatura alcanzada en la combustión y por la reacción de combustión misma, se favorezca la formación de átomos en estado fundamental a partir de los componentes en solución.
- d. Un sistema óptico que separe la radiación de longitud de onda de interés, de todas las demás radiaciones que entran a dicho sistema.
- e. Un detector o transductor, que sea capaz de transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética, en señales eléctricas o de intensidad de corriente.
- f. Un amplificador o sistema electrónico, que como su nombre lo indica amplifica la señal eléctrica producida, para que en el siguiente paso pueda ser procesada con circuitos y sistemas electrónicos comunes.
- g. Por último, un sistema de lectura en el cual la señal de intensidad de corriente, sea convertida a una señal que el operario pueda interpretar (ejemplo: transmitancia o absorbancia). Este sistema de lectura, puede ser una escala de aguja, una escala de dígitos, un graficador, una serie de datos que pueden ser procesados a su vez por una computadora, etc (Rocha Castro, 2000), (Skoog *et al.*, 2010). La Figura 15 muestra un esquema general los componentes principales de un espectrofotómetro de absorción atómica de flama.

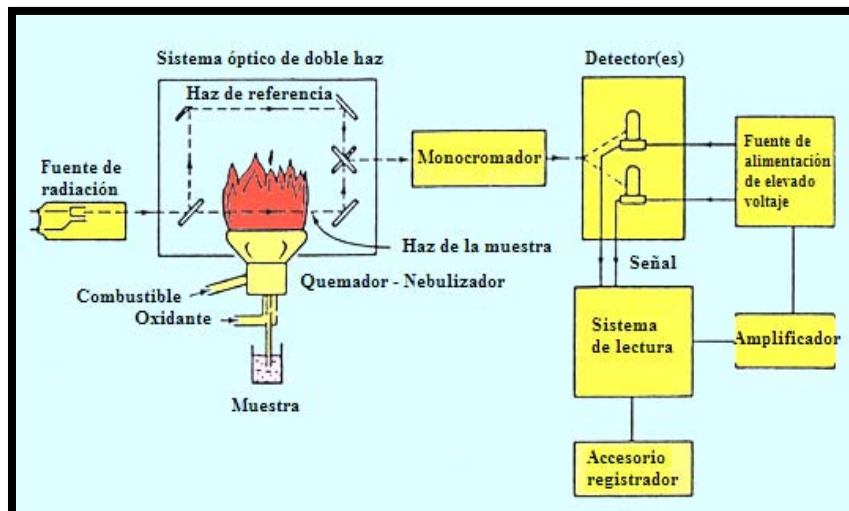


Figura 15. Componentes principales del Espectrofotómetro de Absorción Atómica
(Moure Peláez, Pérez Martos, González Durán, Muñoz Román, & Hublard Noguerras, 2003)

4.7.2 Absorción atómica de flama

La muestra en forma líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se desintegra mediante el flujo de oxidante gaseoso mezclado con un combustible también gaseoso y forma un rocío o pequeñas gotas de líquido. Las gotas formadas son conducidas a una flama, donde se produce una serie de eventos que originan la formación de átomos. Estos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración.

La señal de la lámpara una vez que pasa por la flama llega al monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura (Rocha Castro, 2000).

Puesto que la energía térmica de la flama es responsable de producir las especies absorbentes, la temperatura de la flama es un parámetro importante que rige el proceso de la flama. Las temperaturas para algunas flamas que se han utilizado en

la absorción atómica se incluyen en la Tabla 5. Las dos flamas más utilizadas para la absorción atómica son aire-acetileno es satisfactoria para la mayoría de los elementos determinados por absorción atómica, la flama más caliente de óxido nitroso-acetileno es necesaria para muchos elementos refractarios que forman (Richard, B. 2000).

Tabla 5. Temperaturas de flama

Oxidante-combustible	°C
Aire-metano	1850-1900
Gas natural-aire	1700-1900
Aire-hidrogeno	2000-2050
Aire-acetileno	2125-2400
Óxido nitroso-acetileno	2600-2800

(Harris, 2012)

4.7.3 Aplicaciones

La espectrofotometría de absorción atómica resulta útil en diversos campos para el análisis de muestras que se encuentren en disolución o que mediante un método u otro puedan llegar a disolverse.

De gran importancia resulta la aplicación de esta técnica en estudios medioambientales, en la determinación de sustancias contaminantes a nivel de trazas, en particular de metales pesados. Se aplica esta técnica a los campos de análisis de agua, industria farmacéutica, bioquímica y toxicología, metalurgia, edafología, industria alimentaria, piensos animales, fertilizantes, productos petrolíferos, plásticos y fibras sintéticas, rocas y suelos, minería, vidrios y productos cerámicos, cementos etc.

5 METODOLOGÍA

5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

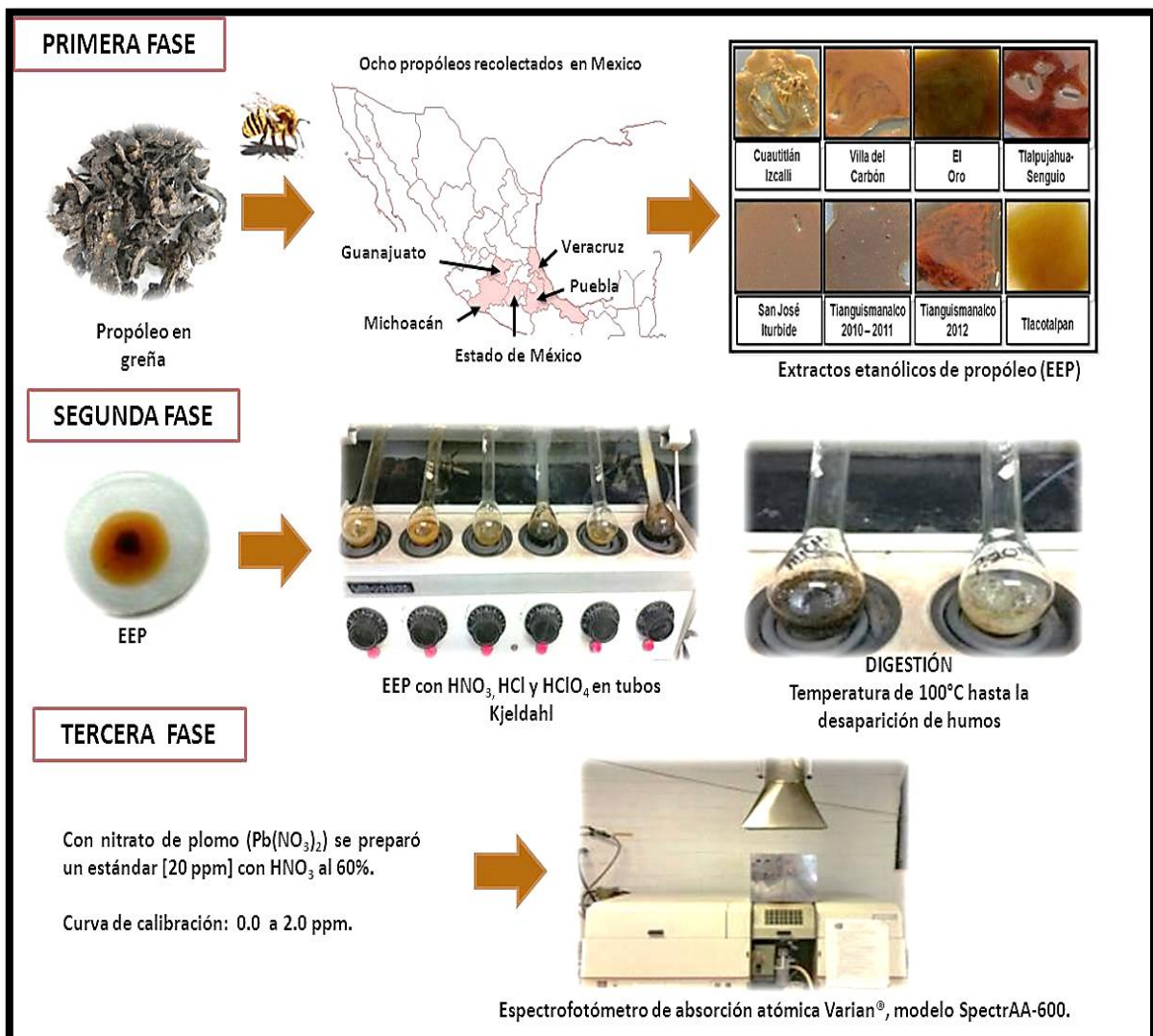


Figura 16. Representación de las actividades realizadas en la fase experimental de esta investigación.

5.2 Muestras de propóleos

Las muestras de ocho propóleo fueron recolectadas por apicultores de los diferentes apiarios de la República Mexicana (Figura 16). Las muestras se conservaron en bolsas de plástico a 4°C .



Figura 17. Ubicación geográfica de recolección de propóleos.

Se utilizaron 3 muestras del Estado de México (FES Cuautitlán, Villa del Carbón, El Oro), 2 de Puebla (Tianguismanalco, de diferente cosecha), Michoacán (Tlalpujahuá-Senguío), Guanajuato (San José Iturbide) y Veracruz (Tlacotalpan). En la Tabla 6, se muestra la fecha de recolección y ubicación de los apiarios estudiados.

Tabla 6. Fecha de recolección y ubicación de los apiarios

Lugar de origen	Fecha de Recolección	Ubicación geográfica Coordenadas
Cuautitlán	Abril	Latitud norte: 19° 40' 50"
Izcalli	2013	Longitud occidental: 99° 12' 25" Altitud 2260 msnm
El Oro	Septiembre	Latitud norte: 19° 51' 34"
Estado de México	2013	Longitud oeste: 100° 08' 49" Altitud 3200 msnm
Villa del Carbón	Septiembre 2012	Latitud norte: 19° 54' 24" Longitud oeste: 99° 39' 07" Altitud 2600 msnm

Tabla 6. Continuación

Lugar de origen		Fecha de Recolección	Ubicación geográfica Coordenadas
Puebla	Tianguismanalco	2010-2011	Entre los paralelos latitud norte: 18° 56' y 19° 04'; y los
	Tianguismanalco	Noviembre 2012	meridianos longitud oeste: 98° 24' y 98° 35' Altitud entre 1940 y 2220 msnm
Michoacán	Tlalpujahuá-Senguio	Mayo 2013	Latitud norte: 19° 18' a 19° 45' Longitud oeste: 100° 08' a 100° 24' Altitud 2500 msnm
Guanajuato	San José Iturbide	Abril 2013	Latitud norte: 21° 07'; sur: 20° 53' Longitud este: 100° 14'; oeste: 100° 32' Altitud 2100 msnm
Veracruz	Tlacotalpan	Noviembre 2009	Latitud norte: 18° 36' 47" Longitud oeste: 95° 39' 23" Altitud: 10 msnm

5.2.1 Acondicionamiento de las muestras

Las muestras se acondicionaron eliminando las impurezas visibles en el propóleo, tales como virutas de madera, restos de abeja, de pintura, y vegetales, entre otros. Posteriormente se refrigeró para su adecuada conservación a 4°C, ya que a bajas temperaturas el propóleo se vuelve rígido y se logra fraccionar en trozos mediante la molienda en un mortero de porcelana, después de la molienda debe conservarse nuevamente en refrigeración, protegidas de la luz en recipientes color ámbar y bien cerrados hasta el momento de realizar los extractos.

5.2.2 Preparación de los extractos etanólicos (EEP)

Para obtener los extractos etanólicos se pesaron 50 g de cada muestra de propóleo en bruto se extrajo utilizando un proceso de maceración con etanol al 70% en una proporción 3:1 por un período de 72 horas. Posteriormente se separó por filtración y el extracto resultante se concentró a presión reducida, en rotavapor y se dejó por un período de 2-3 días a sequedad utilizando una bomba de vacío. El material restante se colocó en un frasco ámbar y se mantuvo en refrigeración para las determinaciones posteriores.

5.3 Determinación del contenido de plomo

Para la determinación del contenido de plomo de los ocho extractos etanólicos, la metodología se desarrolla de acuerdo a la técnica descrita por González. A (1997), con modificaciones.

5.3.1 Preparación de la curva de calibración

Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Química Analítica ubicado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1.

5.3.1.1 Solución patrón de referencia

Se preparó una solución patrón de referencia de plomo por triplicado con una concentración de 20.0 ppm de plomo, a partir de nitrato de plomo grado reactivo analítico, ácido nítrico al 60% (v/v) y agua destilada como diluyente. A partir de cada solución patrón de referencia se preparó una curva de calibración de plomo que se construyó en un intervalo de concentraciones de 0.0, 0.1, 0.2, 0.8, 1.2, 1.6 y 2.0 ppm.

Se pesaron aproximadamente y con exactitud 32.0 mg de nitrato de plomo (equivalente a 20.0 mg de plomo) y posteriormente se transfirió a un matraz volumétrico de 10 mL, se adicionó 5.0 mL de ácido nítrico al 60%, se agitó hasta su completa disolución y posteriormente se llevó a volumen de aforo con agua destilada. De ésta solución se tomó una alícuota de 100.0 μ L con una micropipeta de volumen variable 10/100 μ L y se depositaron en un matraz volumétrico de 10 mL y se llevó al aforo con el mismo diluyente. Concentración aproximada de plomo 20.0 ppm.

5.3.1.2 Preparación de estándares a cada intervalo de concentración.

A partir de la solución patrón de referencia de plomo, se transfieren a matraces volumétricos debidamente identificados, las alícuotas correspondientes para cada concentración señalada en la Tabla 7, las alícuotas se toman con micropipetas de volumen variable 10/100 μ L y 100/1000 μ L, se adicionan 2.5 ml de ácido nítrico concentrado y se llevaron a volumen con agua destilada.

Tabla 7. Estándares a cada intervalo de concentración.

	Patrón de referencia (μL)	Plomo (ppm)	Ácido nítrico concentrado (mL)	Volumen de aforo (mL)
Blanco	0	0.0	2.5	10
Estándar 1	50	0.1	2.5	10
Estándar 2	100	0.2	2.5	10
Estándar 3	400	0.8	2.5	10
Estándar 4	600	1.2	2.5	10
Estándar 5	800	1.6	2.5	10
Estándar 6	1000	2.0	2.5	10

Posteriormente, se leen las soluciones de referencia de plomo en el espectrofotómetro de absorción atómica con la finalidad de verificar que la curva de

calibración obtenida cuantifique correctamente el analito. Criterio de aceptación: Coeficiente de correlación lineal $R^2 \geq 0.9800$.

5.3.2 Preparación de las muestras

Este procedimiento se realizó en el laboratorio de Química Experimental ubicado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1. Bajo la dirección de la M. E. Victoria O. Hernández Palacios.

Se pesaron 500 mg de cada EEP y se transfirieron a matraces Kjendahl de 100 mL, se añadieron 3 mL de ácido nítrico concentrado, 3 mL de ácido perclórico concentrado y 3 mL de ácido clorhídrico concentrado. Posteriormente se colocaron en un digestor a una temperatura de 100 °C hasta la desaparición de humos rojos. Este proceso se repitió tantas veces como fue necesario, hasta conseguir un precipitado totalmente blanco. Posteriormente el precipitado se redisolvió en 5 mL de ácido nítrico concentrado y se transfirió a un matraz aforado de 20 mL, se lavaron tres veces cada matraz Kjendahl con 3 mL de agua destilada y se transfirieron al mismo matraz aforado, posteriormente se llevaron al aforo. Se dejaron reposar las soluciones para determinar los niveles de plomo.

Simultáneamente se preparó un blanco de la muestra con agua destilada, usando los mismos reactivos bajo las mismas condiciones.

5.3.3 Determinación de plomo en las muestras de extractos etanólicos de propóleo

Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Química Analítica ubicado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1. Bajo la responsabilidad del Dr. Julio César Botello Pozos.

Se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica con atomización electrotérmica Varian®, modelo SpectrAA-600, software SpectrAA-220, con lámpara de cátodo hueco monoelemental de plomo Varian® bajo las siguientes condiciones instrumentales:

- Longitud de onda = 217 nm.
- Paso de la luz: 1.0 nm
- Flama utilizada: Aire/Acetileno

A continuación se optimizó el equipo, alineando la lámpara y ajustando el quemador tanto en sentido vertical, horizontal y transversal. Se encendió la flama y se esperó hasta que el quemador alcanzará un equilibrio térmico de acuerdo a las especificaciones del manual de operación del equipo, posteriormente se ajustó el equipo a cero con la solución blanco. Después se procedió a leer los estándares en orden creciente de concentración. Trazar una gráfica de concentración (x) vs respuesta (y), e incluir en ella la ecuación, la línea de ajuste y el coeficiente de determinación. Se leen las muestras y se calcula la concentración utilizando la ecuación de regresión en la gráfica.

6 RESULTADOS

6.1 Características organolépticas generales de los extractos etanólicos (EEP) obtenidos.

La coloración de los extractos fue del color de ámbar claro a café (Figura 18); la intensidad de color está íntimamente relacionada con el contenido de los compuestos bioactivos (Rodríguez Pérez, 2015).

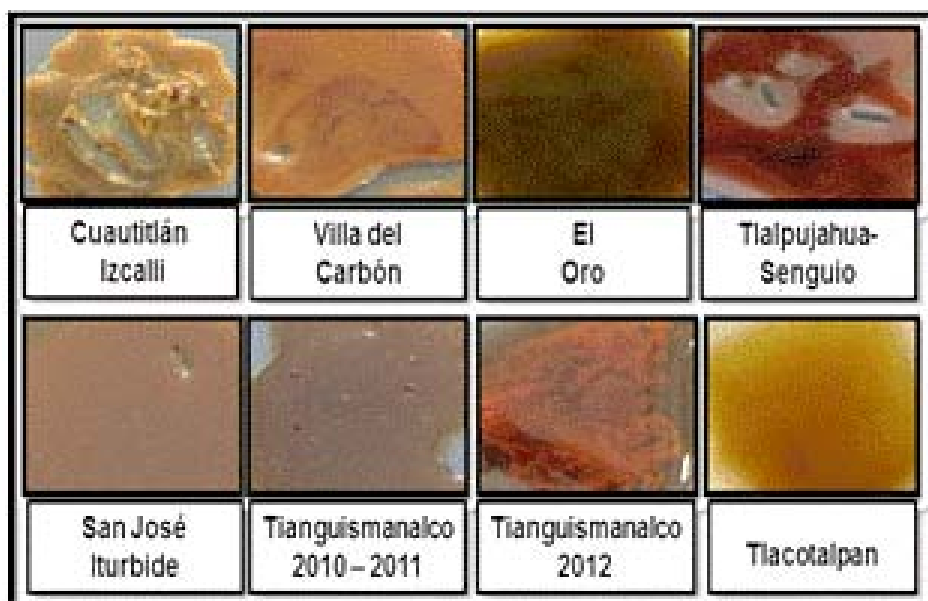


Figura 18. Color y consistencia a 20°C de los ocho extractos etanólicos de propóleo.

El aroma que presentaron fue resinoso en los extractos de Villa del carbón (Estado de México), ambas muestras de Tianguismanalco (Puebla), San José Iturbide (Guanajuato), y Tlacotalpan (Veracruz), el resto presentó un aroma balsámico y un sabor amargo en todos los casos, debido a su origen botánico. (Bedascarrasbure *et al.*, 2006). La consistencia en la mayoría de las muestras fue suave y maleable a temperatura ambiente. La Tabla 8 muestra las características organolépticas generales realizadas a los ocho extractos etanólicos de propóleos.

Tabla 8. Características organolépticas generales de los extractos etanólicos de propóleos

Lugar de origen		Color	Olor	Sabor	Consistencia
Estado de México	Cuautitlán Izcalli	Café claro	Aromático	Amargo	Maleable
	El Oro	Café con tonos amarillentos	Aromático	Amargo	Maleable
	Villa del Carbón	Café marrón	Resinoso	Amargo	Maleable
Puebla	Tianguismanalco 2010-2011	Café	Resinoso	Amargo	Maleable
	Tianguismanalco 2012	Café marrón	Resinoso	Amargo	Maleable
Michoacán	Tlalpujahua-Senguio	Marrón	Aromático	Amargo	Maleable
Guanajuato	San José Iturbide	Café con tonos ligeramente marrón	Resinoso	Amargo	Maleable
Veracruz	Tlacotalpan	Ámbar claro	Resinoso	Amargo	Muy maleable

6.2 Determinación del contenido de plomo por espectrofotometría de absorción atómica

Para la determinación de plomo, se analizaron las muestras por medio de espectrofotometría de absorción atómica a través de una curva de calibración de

plomo realizada por triplicado en un intervalo de concentraciones de 0.0, 0.1, 0.2, 0.8, 1.2, 1.6 y 2.0 ppm.

Los resultados obtenidos de cada curva de calibración se muestran a continuación en Tabla 9.

Tabla 9. Resultados de curva de calibración

Sistema	Plomo (ppm)	Absorbancia
Blanco 1 ^a	0	0.0000
Blanco 2 ^b	0	-0.0001
Blanco 3 ^c	0	0.0000
Estándar 1 ^a	0.1	0.0127
Estándar 1 ^b	0.1	0.0116
Estándar 1 ^c	0.1	0.0119
Estándar 2 ^a	0.2	0.0203
Estándar 2 ^b	0.2	0.0139
Estándar 2 ^c	0.2	0.0168
Estándar 3 ^a	0.8	0.0875
Estándar 3 ^b	0.8	0.0819
Estándar 3 ^c	0.8	0.0860
Estándar 4 ^a	1.2	0.1104
Estándar 4 ^b	1.2	0.1069
Estándar 4 ^c	1.2	0.1094
Estándar 5 ^a	1.7	0.1392
Estándar 5 ^b	1.6	0.1372
Estándar 5 ^c	1.6	0.1371
Estándar 6 ^a	2.1	0.1719
Estándar 6 ^b	2.0	0.1475
Estándar 6 ^c	2.0	0.1594

a: curva de calibración 1; b: curva de calibración 2; c: curva de calibración 3.

La Tabla 10 muestra los promedios de concentración de plomo y absorbancia para graficar la curva de calibración de concentración de plomo en ppm (x) vs absorbancia (y).

Tabla 10. Curva de calibración promedio de plomo

Sistema	Concentración promedio Plomo ppm	Absorbancia promedio
Blanco	0	0.0000
Estándar 1	0.1	0.0121
Estándar 2	0.2	0.0170
Estándar 3	0.8	0.0851
Estándar 4	1.2	0.1089
Estándar 5	1.6	0.1378
Estándar 6	2.0	0.1594

En la Figura 19, se muestra la curva de calibración de plomo obtenida. Se muestra una respuesta lineal con un coeficiente de correlación $R^2=0.9849$ el cual cumple con el criterio de aceptación establecido de acuerdo a la Guía de validación de métodos analíticos. Se determinó el valor promedio de la ordenada al origen y de la pendiente los cuales fueron +0.0054 y 0.0809 respectivamente.

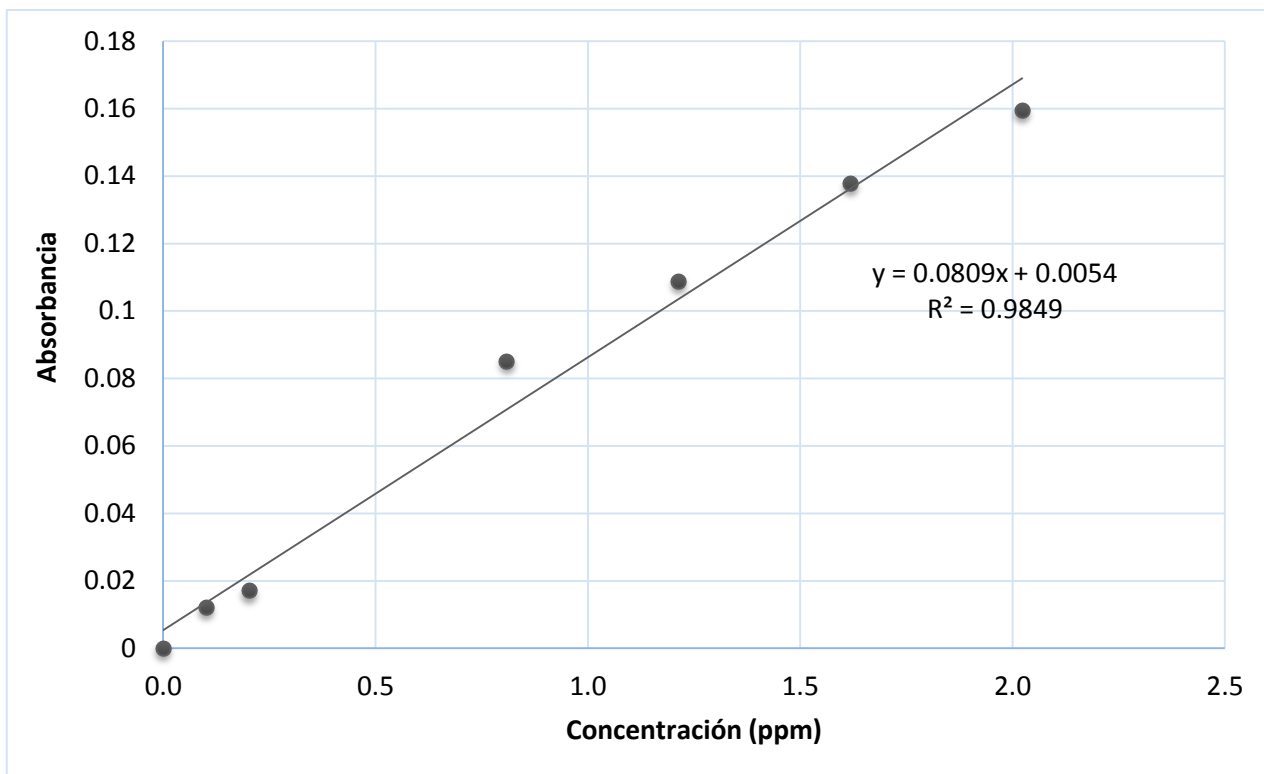


Figura 19. Curva de calibración de plomo.

Con la ecuación de la línea recta obtenida y las lecturas de las muestras correspondientes se determinaron las concentraciones de plomo en los extractos etanólicos como se muestra en la Tabla 11. Los resultados de esta evaluación fueron bastante favorables, al encontrar que ninguna de las muestras analizadas presentan niveles superiores a los permitidos de 0.2 ppm establecidos por normas internacionales (Bedascarrasbure *et al.*, 2006). Seis de las ocho muestras mostraron niveles no detectables de plomo.

Tabla 11. Concentración de plomo en extractos etanólicos de propóleo

Lugar de origen de los propóleos		M1	M2	M3	Promedio	Ppm	DS
Estado de México	Cuautitlán Izcalli	0.0065	0.0061	0.0066	0.0064	0.01	0.0002
	Villa del Carbón	0.0138	0.0141	0.0150	0.0143	0.11*	0.0005
	El Oro	0.0048	0.0059	0.0050	0.0052	0.00	0.0005
Puebla	Tianguismanalco 2010-2011	0.0156	0.0170	0.0149	0.0158	0.13*	0.0009
	Tianguismanalco 2012	0.0110	0.0093	0.0109	0.0104	0.06	0.0008
Michoacán	Tlalpujahuá- Senguio	0.0063	0.0067	0.0065	0.0065	0.01	0.0002
Guanajuato	San José Iturbide	0.0053	0.0068	0.0071	0.0064	0.01	0.0008
Veracruz	Tlacotalpan	0.0089	0.0102	0.0094	0.0095	0.05	0.0005

*Muestras con mayor cantidad de plomo sin rebasar el límite establecido de 0.2 ppm.

7 DISCUSION

El objetivo general de este trabajo fue determinar el contenido de plomo en ocho extractos etanólicos de propóleos de diferentes regiones de México mediante espectrofotometría de absorción atómica.

En la determinación de las propiedades organolépticas de las muestras de propóleo constituye una parte importante del conjunto de estudios del control de calidad requeridos para este producto por las normas internacionales. El análisis de la determinación del color, olor y sabor está directamente relacionados con la flora dominante de la zona de recolección, así como también la fecha de recolección (Rodríguez Pérez, 2015).

En siete de las ocho muestras (87.5%), Cuautitlán Izcalli, Villa del Carbón y El Oro (Estado de México), Tianguismanalco (Puebla) ambas cosechas, Tlalpujahua-Senguio (Michoacán) y San José Iturbide (Guanajuato) el color predominante fue el marrón a café, esto corresponde al tipo de vegetación que caracteriza a la zona del Altiplano. Con un menor porcentaje (12.5%) corresponde a Tlacotalpan (Veracruz) con un color ámbar claro esto se debe a tipo de vegetación predominante de la zona Golfo.

Las muestras analizadas no presentaron concentraciones >0.2 ppm, que es el límite establecido por la normatividad internacional de países como Brasil, Argentina y Japón, para extractos de propóleos.

Al llevar a cabo la cuantificación se encontró que los propóleos con mayor con mayor cantidad de plomo fueron Tianguismanalco, Puebla cosecha 2010-2011 con un valor de 0.13 ppm y Villa del Carbón, Estado de México con un valor de 0.11 ppm sobre los propóleos de Tlalpujahua-Senguio, Michoacán, San José Iturbide, Guanajuato y Cuautitlán Izcalli, Estado de México con valores bajos de 0.01 ppm y

no detectable para El Oro, Estado de México con 0.00 ppm de plomo, (Tabla 11). Esto puede ser atribuido a una posible contaminación medioambiental originada por la actividad humana alrededor de los apiarios a través de diferentes fuentes, como el aire, el agua, las plantas y el suelo. Es probable que los apiarios estén ubicados cerca de carreteras y puedan incorporar mayores concentraciones de plomo en sus productos que los apiarios silvestres, lo cual ha sido utilizado como evidencia de contaminación ambiental, debido a que los metales pesados se acumulan diferencialmente en distintos órganos vegetales.

En la literatura hay estudios que indican que la contaminación del medio ambiente, produce un aumento de residuos sobre el cuerpo de las abejas, ya que al estar cubierta de finos pelos en todo su cuerpo retienen partículas de éste metal. Esto trae como consecuencia daños en la colmena y la contaminación de sus productos (Dario Pierini, 2014).

Otra fuente de contaminación externa importante de los propóleos reside en la manipulación humana, principalmente en los métodos de recolección utilizados para su extracción. El método de raspado posee una serie de inconvenientes tales como una mayor probabilidad de contaminar el producto final debido a la presencia de pintura a base de plomo que se aplica a algunas colmenas.

Un estudio realizado por Sales *et al.* (2006) evaluaron el efecto de diferentes métodos de recolección de propóleos en su contenido de plomo. Los resultados obtenidos demuestran que el contenido de plomo es mayor, empleando el método de raspado, mientras que el propóleo recolectado por el método de mallas presenta niveles más bajos de éste metal.

En el caso del apiario de FES Cuautitlán la presencia de plomo fue prácticamente indetectable a pesar de encontrarse localizado en una zona urbana, se tienen controladas las variables de contaminación en la colmena.

8 CONCLUSIONES

Las muestras analizadas no presentaron concentraciones > 0.2 ppm, que es el límite establecido por la normatividad internacional, como la norma de calidad argentina IRAM-INTA 15935-2, para extractos de propóleos.

El método de la espectrofotometría de absorción atómica es de mucha utilidad para la análisis de plomo no solo en propóleos sino en los demás productos apícolas al permitir detectar y cuantificar la presencia de metales pesados a nivel de trazas y garantizar productos seguros para la salud de los consumidores, sobre todo la investigación de plomo resulta ser un tema de continuo interés, por los riesgos tóxicos que implica este metal en el ser humano.

El método de recolección de mallas plásticas es el más recomendado que el método de raspado para obtener propóleos inocuos y seguros, con menor contenido de plomo.

La ubicación geográfica de apiarios en zonas urbanas o cercas de zonas industrializadas, puede incidir en la presencia de este contaminante en los productos apícolas.

Actualmente no se cuenta con una normatividad nacional para el control de contaminantes en productos apícolas como el propóleo.

Por lo cual y dado los resultados obtenidos esta investigación es antecedente como una opción y aporte para poder definir parámetros de evaluación de los propóleos mexicanos e incluir esta prueba en la Normatividad Mexicana.

9 PROSPECTIVAS

Es importante validar la técnica utilizada en este estudio ampliando el número de muestras en la República Mexicana permitiendo determinar la presencia de plomo.

Realizar la difusión a los apicultores, que llevar un control calidad de los productos de la colmena está directamente relacionada con los métodos de recolección, conservación y almacenamiento, para que puedan competir en el mercado nacional e internacional.

Proponer éste parámetro de evaluación a laboratorios destinados al control e investigación de productos apícolas, entre los cuales destaca el Laboratorio de Análisis de Propóleos de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (UIM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, como un aporte que permita garantizar la seguridad de los propóleos.

10 Bibliografía

- Alvarez, S. (2012). Caracterización organoléptica y físico-química de propóleos del departamento de la libertad, Perú. *The Biologist*, 10(1), 34-40.
- Azcona Cruz, M. I., Ramírez Ayala, R., & Vicente Flores, G. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Revista de Especialidades Médico Quirúrgicas*, 20, 72-77.
- Bedascarrasbure, E., Maldonado, L., Fierro Morales, W., & Alvarez, A. (2006). *Propóleos. Caracterización y normalización de los propóleos argentinos: Revisión y actualización de composición y propiedades*. Argentina: Ediciones Magna Publicaciones.
- Benítez, C. (28 de Octubre de 2013). *slideshare.com*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/macelestebenitez/plomo-27666514>
- Bogdanov, S. (2005). Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37, 1-18.
- Canfield, R. L., Henderson, C. R., Cory-Slechta, D. A., Cox, C., Jusko, T. A., & Lanphear, B. P. (2003). Intellectual Impairment in Children with Blood Lead. *The new england journal of medicine*, 348(16), 1517-1526.
- Cortés Rubira, J. (2008). *Evaluación del efecto de extractos etanólicos de propólis sobre el control de alternaria solani en cultivo ecológico de tomate (solanum lycopersicum)*. Tesis de licenciatura, Escuela Nacional de Agricultura de Barcelona, Barcelona, España.
- Crone, E. (1999). *Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy*. (A. Mizrahi, & Y. Lensky, Edits.) New York: Plenum Press.
- Dario Pierini, G. (2014). *Desarrollo de métodos analíticos para la evaluación de parámetros de calidad de propóleos*. Tesis de doctorado, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Fakhimzadeh, K., & Lodenius, M. (2000). Heavy metals in Finnish honey, pollen and honey bees. *Apiacta*, 35(2), 85-95.
- Fierro Morales, W. (2000). Congreso internacional de propóleos. *Evidencia científica desde el punto de vista médico*, (págs. 75-85). Buenos Aires.
- González Guerra, A., & Bernal Méndez, R. (1997). *Propóleos: un camino hacia la salud*. La Habana, Cuba: Editorial Pablo de la Torriente.

- Gülçin, I., Bursal, E., Sehitoglu, M., Bilsel, M., & Gören, A. (2010). Polyphenols contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2227-2238.
- Guzzetti, S., & Santi, A. (2006). *Apicultura para principiantes: Manual práctico para la cría y comercialización de las abejas y sus propóleos*. Argentina : Continente.
- Harris, D. C. (2012). *Análisis químico cuantitativo* (Tercera ed.). Barcelona, España: Reverté, S.A.
- Hernández Camacho, C. (2013). *Caracterización de la composición química y del efecto biológico de propóleos recolectados en diferentes apiarios y estaciones del año*. Título de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Hernández Hernández, V. (2015). *Caracterización química de las ceras obtenidas a partir de propóleos de la zona del altiplano mexicano*. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Hernández Pérez, V. (2013). *Implementación del método de cromatografía líquida de alta resolución para la identificación y cuantificación de flavonoides presentes en propóleos mexicanos*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, México.
- Krantz, A., & Dorevitch, S. (2004). Metal exposure and common chronic diseases: a guide for the clinician. *Disease a Month*, 50, 215-262.
- Kumazawa, S., Ueda, R., Hamasaka, T., Fukumoto, S., Fujimoto, T., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant prenylated flavonoids from propolis collected in Okinawa, Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(19), 7722-7725.
- Lin, J. L., Tan, D. T., Hsu, K. H., & Yu, C. C. (2001). Environmental lead exposure and progressive renal insufficiency. *Archives of internal medicine*, 161(2), 264-271. Recuperado el 18 de Febrero de 2017, de <http://jamanetwork.com/journals/jamainternalmedicine/fullarticle/647069>
- López del Villar, J. A., & Ubillús Celi, M. M. (2004). *Estandarización de propóleos de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú) como materia*

- prima para su utilización a nivel industria*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Recuperado el 28 de Enero de 2017, de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/2328/1/Lopez_vj.pdf
- Martínez, L. R., Delgado, M. A., Rojas, N., & Casillas, R. (2011). El propóleo y las técnicas para su colecta. (SAGARPA, Ed.) *Notiabeja*, 2011(1), 8-9.
- Mendes da Silva, J. F., de Souza, M. C., Ramalho Matta, S., Ribeiro de Andrade, M., & Nova Vidal, F. V. (2006). Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 99(3), 431-435.
- Moure Peláez, A., Pérez Martos, F. J., González Durán, J. M., Muñoz Román, M., & Hublard Noguerras, M. (2003). *Espectroscopía de absorción atómica*. Recuperado el 27 de Noviembre de 2016, de http://www.xtec.cat/~gjimene2/licencia/students/bscw.gmd.de_bscw_bscw.cgi_d32817116-3_____AAS_final.html
- Muñoz Vazquez, P. D. (2014). *monografías.com*. Recuperado el 25 de Febrero de 2017, de <http://m.monografias.com-trabajos106-apicultura-inicial/apicultura-inicial.shtml>
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., & Suzuki, N. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry*, 80(1), 29-33.
- Navarro Frómeta. (2013). Recuperado el 5 de Diciembre de 2016, de El experimento de absorción atómica: http://navarrof.orgfree.com/Docencia/AnálisisInstrumental/UT2/EAA2_files/image002.jpg
- Noriega Salmón, V. (2014). *El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica*. Curso de adaptación al grado de enfermería, Universidad de Cantabria, Departamento de enfermería, Cantabria, España. Recuperado el 30 de Octubre de 2016, de <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/5580/NoriegaSalmonV.pdf>

- Ochoa, R., & Ortega, C. (2010). Situación actual y perspectiva de la apicultura en México. *Claridades Agropecuarias*, 199(3-34). Recuperado el 15 de Agosto de 2017, de <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/199/ca199-3.pdf>
- Palomino García, L. R., Martínez Galán, J. P., García Pajón, C. M., Gil González, J. H., & Durango Restrepo, D. L. (2010). Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleo en el municipio de la Unión (Antioquia, Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 63(1), 5373-5383. Recuperado el 16 de Febrero de 2017, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n1/a13v63n01.pdf>
- Papotti, G., Bertelli, D., Bartolotti, L., & Plessi, M. (2012). Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(1), 2852-2862.
- Peña, R. C. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e investigación agraria*, 35(1), 17-26.
- Rocha Castro, E. (2000). *Principios básicos de espectroscopia*. México: Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Rodríguez Pérez, B. (2015). *Perfil químico de propóleos mexicanos para su aplicación en medicina veterinaria*. Tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Recuperado el 29 de marzo de 2016
- Rodríguez Rey, A., Cuéllar Luna, L., Maldonado Cantillo, G., & Suardiaz Espinosa, M. E. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(1), 251-271. Recuperado el 15 de Enero de 2017, de <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v35n3/ibi06316.pdf>
- Rubio, C., Gutiérrez, A. J., Martín, R. E., Rever, C., Lozano, G., & Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 21(2-3), 72-80. Recuperado el 10 de Febrero de 2017, de <http://www.fmed.uba.ar/depto/toxico1/articulos/7.pdf>
- Saavedra, A. R., Di Bernardo, M. L., Rondón, C., Vit, P., González, I., Saavedra, O., & Gutiérrez, L. (2007). Determinación de plomo en polen apícola de Brassica

- napus L. del Páramo de Misintá, estado Mérida, Venezuela. *Revista Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 38(1), 6-10.
- SAGARPA. (2016). *PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-003-SAG/GAN-2016, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento*. Proyecto de Norma, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Saiz Cayuela, M., & Serrano, J. (2003). Propóleo: aplicaciones terapéuticas. *Natura Medicatrix*, 21(2), 94-104. Recuperado el 06 de Septiembre de 2016, de [file:///C:/Users/qfber_000/Downloads/Dialnet-Propoleo-4956307%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/qfber_000/Downloads/Dialnet-Propoleo-4956307%20(2).pdf)
- Sales, A., Alvarez, A., Rodriguez Areal, M., Maldonado, L., Marchisio, P., Rodriguez, M., & Bedascarrasbure, E. (2006). The effect of different propolis harvest methods on its lead contents determined by ET AAS and UV-visS. *Journal of Hazardous Materials, A* 137(2006), 1352-1356.
- Santos, F. A., Bastos, E. M., Uzeda, M., Carvalho, M. A., Farias, L. M., Moreira, E. S., & Braga, F. C. (2002). Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(1), 1-7.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2010). *Fundamentos de química analítica* (Octava ed.). México: Cengage Learning .
- Texon Juárez, E. (Julio de 2012). *Yumpu*. (O. N. Apicultores, Editor) Recuperado el 26 de Febrero de 2017, de <https://www.yumpu.com/es/document/view/31743273/texon1/26>
- Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1-13. Recuperado el 29 de Noviembre de 2016, de <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/697390/>
- Valdivia Infantas, M. M. (2005). Intoxicación por plomo. *Sociedad peruana de medicina interna*, 18(1), 22-27. Recuperado el 10 de Febrero de 2017, de http://medicinainterna.org.pe/revista/revista_18_1_2005/Intoxicacion.pdf

- Vargas Sánchez, R. D., Torrescano Urrutia, G. R., & Sánchez Escalante, A. (2013). El propóleos: conservador potencial para la industria alimentaria. *Interciencia*, 38(10), 705-711. Recuperado el 08 de Abril de 2016, de <http://www.redalyc.org/pdf/339/33929482003.pdf>
- Vupputuri, S., He, J., Muntner, P., Bazzano, L. A., Whelton, P. K., & Batuman, V. (2009). Blood lead level is associated with elevated blood pressure in blacks. *Hypertension*, 41, 463-468. Recuperado el 19 de Mayo de 2017, de <https://pdfs.semanticscholar.org/8548/f32e2ec0da69d69c3b313d71042b78047613.pdf>
- Wagh, V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013, 1-11. Recuperado el 23 de Noviembre de 2016, de <https://www.hindawi.com/journals/aps/2013/308249/>
- Yang, H., Dong, Y., Du, H., Shi, H., Peng, Y., & Li, X. (2011). Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules*, 16(4), 3444-3455. Recuperado el 22 de Febrero de 2017, de file:///C:/Users/qfber_000/Downloads/molecules-16-03444.pdf